



PEDRO MANUEL DA FONSECA ANTUNES

Licenciado

ABORDAGEM INTEGRADA NA ANÁLISE QUÍMICA DE AMOSTRAS AMBIENTAIS

Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em Química

Orientador: Elvira Maria Mendes Sardão Monteiro Gaspar,
Professora Auxiliar da Faculdade de Ciência e
Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Co-orientador: Josep Rivera, Professor Catedrático do Dioxin
Laboratory Institute of Environmental
Assessment and Water Research, IDÆA-
CSIC de Barcelona - Espanha

Júri:

Presidente: Prof. Doutor Reitor da Universidade Nova de Lisboa

Arguente(s): Prof. Doutor Higuinaldo José Chaves das Neves
Prof. Doutor Sebastião José Formosinho Sanches Simões

Vogais: Prof.^a Doutora Elvira Maria Mendes Sardão Monteiro Gaspar
Prof. Doutor Josep Rivera
Prof. Doutor Alberto António Caria Canelas Pais
Prof.^a Doutora Maria Teresa Seabra dos Reis Gomes



NOVEMBRO 2013

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO

**ABORDAGEM INTEGRADA NA ANÁLISE QUÍMICA DE
AMOSTRAS AMBIENTAIS**

**COPYRIGHT: PEDRO MANUEL DA FONSECA ANTUNES – FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE NOVA DE
LISBOA (FCT/UNL)**

A FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA E A UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA TÊM O DIREITO, PERPÉTUO E SEM LIMITES GEOGRÁFICOS, DE ARQUIVAR E PUBLICAR ESTA DISSERTAÇÃO ATRAVÉS DE EXEMPLARES IMPRESSOS REPRODUZIDOS EM PAPEL OU DE FORMA DIGITAL, OU POR QUALQUER OUTRO MEIO CONHECIDO OU QUE VENHA A SER INVENTADO, E DE A DIVULGAR ATRAVÉS DE REPOSITÓRIOS CIENTÍFICOS E DE ADMITIR A SUA CÓPIA E DISTRIBUIÇÃO COM OBJETIVOS EDUCACIONAIS OU DE INVESTIGAÇÃO, NÃO COMERCIAIS, DESDE QUE SEJA DADO CRÉDITO AO AUTOR E EDITOR

“Não fazemos aquilo que queremos e,
no entanto, somos responsáveis por aquilo que somos”

Jean-Paul Charles Aymard Sartre

DEDICATÓRIAS E AGRADECIMENTOS

Concluída mais uma significativa e relevante etapa da minha vida pessoal, tenho de prestar o devido agradecimento, a todas as pessoas que com a sua colaboração, entusiasmo, força e, sobretudo afeto, tornaram esta caminhada mais agradável e proveitosa. Desta forma:

À família,

Agradeço à minha mãe e ao meu irmão toda a paciência, conforto e motivação que despenderam para comigo, estando certo de que foram eles o fator essencial para a conclusão deste projeto.

Aos orientadores,

Agradeço em especial à Professora Elvira Gaspar, bem como ao Professor Josep Rivera a orientação, a disponibilidade e a liberdade concedida durante a realização desta Tese Doutoral.

Agradeço ao Professor Abel Vieira toda a amabilidade, abertura e apoio concedidos, bem como o interesse manifestado sobre a temática das dioxinas.

Agradeço à Eng.^a Tereza Vinhas a iniciativa e empenho demonstrados, em especial junto da Universidade Nova de Lisboa, relativamente à importância desta Tese Doutoral, bem como a força, a motivação e o interesse evidenciado ao longo do projeto;

Agradeço à Eng.^a Paula Viana toda a colaboração e orientação despendida durante a realização da Tese Doutoral.

Aos colaboradores e amigos,

Agradeço à Professora Cândida Vaz o interesse manifestado e o regular espicaçar de atenção. Ações estas, que foram essenciais para que não se deixasse cair em lume brando todo o projeto;

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Referência do Ambiente da Agência Portuguesa do Ambiente I.P., em particular à Teresa Pinto, à Sandra André e ao Punil Sanatcumar, todo o apoio e colaboração prestados durante a realização deste trabalho Doutoral;

Agradeço aos restantes colegas da Agência Portuguesa do Ambiente I.P. e da Inspeção-Geral do Ambiente e Ordenamento do Território, o apoio e a motivação incutidos durante o projeto;

Agradeço à Agência Portuguesa do Ambiente I.P. a oportunidade e a possibilidade de efetuar a parte experimental da Tese Doutoral nas suas instalações;

Agradeço à Inspeção-Geral do Ambiente e Ordenamento do Território toda a bagagem ambiental e a formação legislativa que me concedeu. Neste âmbito, reconheço que os mencionados fatores, contribuíram de forma decisiva para um melhor entendimento da área do Ambiente e, por conseguinte, para me “completar” como pessoa.

RESUMO

Esta Dissertação de Doutoramento resulta de um protocolo de colaboração estabelecido entre a Agência Portuguesa do ambiente, I.P. (APA, IP) e a Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa (FCT/UNL), tendo como objetivo o entendimento e a resolução de problemas ambientais, envolvendo as Policlorodibenzo-*p*-dioxinas (PCDDs), os Policlorodibenzofuranos (PCDFs) e os Compostos Bifenilos Policlorados com atividade de dioxina (*dioxin-like PCBs*).

Trata-se do primeiro estudo efetuado em Portugal abrangendo diferentes ecossistemas ambientais, com vista a caracterizar e melhorar a qualidade ambiental do território Português (missão da APA, IP), que envolveu simultaneamente o desenvolvimento e/ou melhoria dos procedimentos analíticos mais adequados e sensíveis, no que respeita à preparação de amostras, identificação e quantificação dos compostos químicos alvo.

Estes compostos organoclorados são substâncias químicas persistentes, bioacumuláveis, tóxicas e com capacidade de transporte a longas distâncias, pelo que a sua introdução no ambiente potencia riscos de ocorrência de efeitos adversos na saúde das pessoas. Para avaliar este risco foram desenvolvidos e validados procedimentos analíticos de preparação de amostra, na área ambiental, que utilizam menores quantidades de solvente e menor consumo de tempo (Extração Acelerada por Solventes – ASE, ultra-sons e vórtex). Para a análise dos compostos (identificação e quantificação) foi utilizada a Cromatografia Gasosa com deteção por Espectrometria de Massa de Alta Resolução (GC/HRMS).

Os métodos analíticos foram aplicados às amostras obtidas em campanhas de monitorização envolvendo diversos ecossistemas (ovos de gaivota, mexilhão e efluentes gasosos), de modo a melhorar o conhecimento científico acerca dos teores e do risco associado à exposição aos compostos organoclorados.

Os resultados desta Dissertação de Doutoramento foram apresentados num Congresso de Dioxinas e publicados em dois artigos científicos nas revistas *Talanta* e *Chemosphere*.

Termos Chave: Policlorodibenzo-*p*-dioxinas, Poloclorodibenzofuranos, Compostos Bifenilos Policlorados com atividade de dioxina, Risco, Metodologias Analíticas e Monitorização.

ABSTRACT

This PhD Thesis results from the collaboration between Environmental Portuguese Agency, I.P. (APA, IP) and Faculty of Science and Technology of New University of Lisbon. The main objective was to improve the scientific knowledge and resolution of environmental problems involving Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), Polychlorinated Dibenzofurans (PCDFs) and *dioxin-like* Polychlorinated Biphenyls (PCBs).

It represents the first study in Portugal involving different environmental ecosystems in order to characterize and improve the environment quality of Portuguese territory (APA, IP mission), simultaneously developing and refine the analytical procedures respecting to sample preparation, identification and quantification of target compounds.

Being persistent chemical compounds, bioaccumulative, toxic and long-distance transport capable substances their introduction in the environment increases the adverse effects on human health. To access the risk, eco-friendly analytical sample preparation methodologies that use lesser solvent and lesser time of analysis were developed and validated (Accelerated Solvent Extraction – ASE, ultrasound and vortex). For the compounds analysis (identification and quantification) was used Gas Chromatography with High Resolution Mass Spectrometry detector (GC/HRMS).

The methodologies have been applied to monitoring campaigns involving different and representative ecosystems (gull eggs, mussels and gaseous effluents) in order to improve scientific knowledge and risk associated with human exposure to organochlorinated compounds.

The results of this PhD Thesis were presented at Dioxin Congress and published in two scientific papers in Talanta and chemosphere.

Keywords: Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins, Polychlorinated Dibenzofurans, *dioxin-like* Polychlorinated Biphenyls, Risk, Analytical Methodologies and Monitoring.

ÍNDICE DE MATÉRIAS

PRODUÇÃO DE QUÍMICOS, PERSPETIVA ATUAL	1
1.1. CRONOGRAFIA	1
1.2. EVOLUÇÃO MACROECONÓMICA MUNDIAL	3
1.3. PREVISÕES E CRESCIMENTO FUTURO	7
1.4. CONSIDERAÇÕES ADICIONAIS	8
BIBLIOGRAFIA	10

INTRODUÇÃO	11
2.1. OS COMPOSTOS ORGÂNICOS CLORADOS	11
2.1.1. POLICLORODIBENZO- <i>p</i> -DIOXINAS E POLICLORODIBENZOFURANOS (PCDD/Fs)	11
2.1.1.1. ORIGEM E PROVENIÊNCIA DOS PCDD/Fs	14
2.1.1.2. A SÍNTESE DE PCDD/Fs – REFERÊNCIA HISTÓRICA	16
2.1.1.3. FORMAÇÃO DE PCDD/Fs EM PROCESSOS TÉRMICOS	19
2.1.1.3.1. MECANISMOS DE FORMAÇÃO DE PCDD/Fs EM PROCESSOS TÉRMICOS	21
2.1.1.3.2. FATORES QUE INFLUENCIAM A FORMAÇÃO DE PCDD/Fs EM PROCESSOS TÉRMICOS	34
2.1.1.3.3. MEDIDAS PARA IMPEDIR A FORMAÇÃO DE PCDD/Fs EM PROCESSOS TÉRMICOS	39
2.1.1.4. PCDD/Fs EM PROCESSOS INDUSTRIAIS HÚMIDOS	40
2.1.1.4.1. MECANISMOS DE FORMAÇÃO DE PCDD/Fs EM PROCESSOS INDUSTRIAIS HÚMIDOS	40
2.1.1.5. TOXICIDADE DOS PCDD/Fs	42
2.1.1.5.1. AÇÃO BIOLÓGICA DOS PCDD/Fs	44
2.1.1.5.2. DEGRADAÇÃO METABÓLICA DOS PCDD/Fs	44
2.1.1.5.3. DEGRADAÇÃO BIÓTICA DE PCDD/Fs	45
2.1.1.5.4. DEGRADAÇÃO ABIÓTICA DE PCDD/Fs	46
2.1.2. COMPOSTOS BIFENILOS POLICLORADOS COM ATIVIDADE DE DIOXINA	49
2.1.2.1. ORIGEM E PROVENIÊNCIA DOS PCBs	51
2.1.2.2. TOXICIDADE DOS PCBs	53
2.1.2.3. AÇÃO BIOLÓGICA DOS PCBs	54

2.1.2.4.	DEGRADAÇÃO DOS PCBs	55
2.2.	FATORES DE EQUIVALÊNCIA DE TOXICIDADE (TEF)	56
2.3.	IMPORTÂNCIA AMBIENTAL DOS PCDD/Fs E PCBs.....	60
2.3.1.	A EXPOSIÇÃO HUMANA A PCDD/Fs E PCBs	62
2.3.1.1.	A INGESTÃO	63
2.3.1.2.	A INALAÇÃO	68
2.3.1.3.	O CONTACTO DÉRMICO.....	71
2.3.1.4.	DETERMINAÇÃO DA DOSE DIÁRIA TOLERADA (TDI).....	72
2.4.	ANÁLISE QUÍMICA	76
2.4.1.	PREPARAÇÃO DE AMOSTRA	77
2.4.2.	EXTRAÇÃO DOS PCDD/Fs E PCBs COM ATIVIDADE DE DIOXINA.....	79
2.4.2.1.	MATRIZES SÓLIDAS	79
2.4.2.2.	MATRIZES LÍQUIDAS.....	84
2.4.2.3.	MATRIZES GASOSAS.....	87
2.4.3.	LIMPEZA DE AMOSTRA.....	87
2.4.4.	SEPARAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO.....	89
	BIBLIOGRAFIA	97

EXPERIMENTAL 103

3.1.	OBJETIVOS	103
3.1.1.	MATERIAIS E EQUIPAMENTO.....	103
3.1.2.	DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS	105
3.1.2.1.	MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRA	107
3.1.2.1.1.	SOXHLET	107
3.1.2.1.2.	ASE/PLE.....	109
3.1.2.1.3.	ULTRA-SONS (BANHO/SONDA) E VÓRTEX	110
3.1.2.2.	LIMPEZA DAS AMOSTRAS	111
3.1.2.3.	SEPARAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO.....	112
3.1.1.1.1.	ESPECTROMETRIA DE MASSA DE ALTA RESOLUÇÃO	114
3.2.	CAMPANHAS DE MONITORIZAÇÃO AMBIENTAL EM ECOSISTEMAS DE PORTUGAL	118
3.2.1.	MEXILHÃO	118

3.2.2. OVOS DE GAIVOTA.....	121
3.2.3. EFLUENTES GASOSOS EM UNIDADES INDUSTRIAIS	124
BIBLIOGRAFIA	126

RESULTADOS E DISCUSSÃO 127

4.1. VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS.....	127
4.1.1. ESPETRÓMETRO DE MASSA DE ALTA RESOLUÇÃO – TEMPERATURA DA FONTE DE IONIZAÇÃO	127
4.1.2. CONTROLO DE QUALIDADE	129
4.1.2.1. PRECISÃO INTERMÉDIA E ENSAIOS EM BRANCO	129
4.1.2.2. LIMITE DE DETEÇÃO E QUANTIFICAÇÃO (LD E LQ)	131
4.1.2.3. ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO.....	134
4.1.2.3.1. AMOSTRAS SÓLIDAS – SOXHLET E ASE/PLE	135
4.1.2.3.2. AMOSTRAS SÓLIDAS – VÓRTEX, BANHO E SONDA DE ULTRA-SONS.....	142
4.1.2.3.3. AMOSTRAS GASOSAS	145
4.2. CAMPANHAS DE MONITORIZAÇÃO AMBIENTAL.....	147
4.2.1. MEXILHÃO	147
4.2.1.1. LOCALIZAÇÃO DOS PONTOS DE AMOSTRAGEM	147
4.2.1.2. CARATERÍSTICAS DAS AMOSTRAS DE MEXILHÃO.....	149
4.2.1.3. RESULTADOS OBTIDOS NAS CAMPANHAS DO MEXILHÃO	150
4.2.2. OVOS DE GAIVOTA.....	156
4.2.2.1. LOCALIZAÇÃO DOS PONTOS DE AMOSTRAGEM	156
4.2.2.2. CARATERÍSTICAS DAS AMOSTRAS DE OVOS DE GAIVOTA.....	156
4.2.3. EFLUENTES GASOSOS DE UNIDADES INDUSTRIAIS.....	159
4.2.3.1. LOCALIZAÇÃO DOS PONTOS DE AMOSTRAGEM	160
4.2.3.2. RESULTADOS OBTIDOS NA CAMPANHA DE EFLUENTES GASOSOS EM UNIDADES INDUSTRIAIS.....	162
TEOR DE HEXACLOROBENZENO.....	167
4.2.3.3. CÁLCULO DOS FATORES DE EMISSÃO	168
BIBLIOGRAFIA	174

CONCLUSÕES E PERSPETIVAS 177

ANEXOS	181
--------------	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

A PRODUÇÃO DE QUÍMICOS, PERSPETIVA ATUAL

Figura 1.1. – Evolução do PIB e população mundiais desde 1750 até ao ano 2000	3
Figura 1.2. – Vendas de produtos químicos, durante o ano de 2009, nos 30 principais países produtores	5
Figura 1.3. – Produção de produtos químicos por bloco económico desde 1999 até o ano de 2009	6
Figura 1.4. – Vendas de produtos químicos por bloco económico durante o ano de 2009	7
Figura 1.5. – Projeções futuras sobre o consumo de fertilizantes até ao ano de 2030	8

INTRODUÇÃO

Figura 2.1. – Estruturas das <i>o</i> -dioxina (1,2-dioxina) e <i>p</i> -dioxina (1,4-dioxina), respetivamente.	12
Figura 2.2. – Estrutura do furano.	12
Figura 2.3. – Estrutura das policlorodibenzo- <i>p</i> -dioxinas	13
Figura 2.4. – Estrutura dos policlorodibenzofuranos	13
Figura 2.5. – Mecanismo de formação de 1,2,3,4,6,7,8,9-octaclorodibenzo- <i>p</i> -dioxina (OCDD) por decomposição térmica de pentaclorofenolato de potássio	16
Figura 2.6. – Mecanismo de formação de OCDD a partir da decomposição térmica de 2,3,4,4,5,6,6-heptaclorociclo-hex-2-en-1-ona	17
Figura 2.7. – Reação correspondente ao 1º passo do processo Leblanc	19
Figura 2.8. – Reação correspondente ao 2º Passo do processo Leblanc	19
Figura 2.9 – Formação dos radicais pentaclorofenilo e pentaclorofenoxilo por decomposição térmica de hexaclorobenzeno e pentaclorofenol, respetivamente	23
Figura 2.10. – Estruturas de ressonância do radical pentaclorofenoxilo.	24
Figura 2.11. – Formação do radical 2-clorofenoxilo por decomposição térmica de 2-clorofenol	25
Figura 2.12. – Mecanismos de formação de policlorodibenzofuranos por decomposição térmica de clorobenzenos	26
Figura 2.13. – Mecanismos de formação de policlorodibenzofuranos e policlorodibenzo- <i>p</i> -dioxinas por decomposição térmica de clorobenzenos	27

Figura 2.14. – Mecanismos de formação de 1-monoclorodibenzo- <i>p</i> -dioxina ou dibenzo- <i>p</i> -dioxina por decomposição térmica do 2-clorofenol	28
Figura 2.15. – Mecanismos de formação de 4,6-diclorodibenzofurano por decomposição térmica do 2-clorofenol	29
Figura 2.16. – Mecanismos de formação de policlorodibenzofuranos por decomposição térmica de PCBs	30
Figura 2.17. – Mecanismos de formação de policlorodibenzo- <i>p</i> -dioxinas por decomposição térmica de PCDEs	30
Figura 2.18. – Mecanismo de crescimento molecular do tetracloroeteno em fase gasosa	32
Figura 2.19. – Mecanismo de crescimento molecular do hexacloropropeno em fase gasosa	33
Figura 2.20. – Reações de formação de PCDD/Fs catalisadas em superfícies, envolvendo os precursores etino, eteno e propeno	34
Figura 2.21. – Perfil dos congéneres de PCDD/Fs numa amostra de efluente gasoso, proveniente de um processo térmico ou de combustão	35
Figura 2.22. – Formação de PCDD/Fs em 2 horas de recozimento em função da temperatura.	36
Figura 2.23. – Formação de PCDD/Fs em 2 horas de recozimento em função da temperatura	36
Figura 2.24. – Processo de Deacon em incineradoras de resíduos sólidos urbanos	37
Figura 2.25. – Reação representativa da captura de cloro molecular em processos de combustão que utilizem combustíveis fósseis	38
Figura 2.26. – Formação de policlorodibenzo- <i>p</i> -dioxinas a partir de clorobenzenos em meio alcalino .	41
Figura 2.27. – Formação de policlorodibenzo- <i>p</i> -dioxinas a partir do benzeno	41
Figura 2.28. – Formação de policlorodibenzo- <i>p</i> -dioxinas a partir da reação do pentacloroanisole com iodeto de hidrogénio	42
Figura 2.29. – Mecanismo genérico da degradação metabólica de 2,3,7,8-TCDD	46
Figura 2.30. – Estrutura dos Compostos Bifenilos Policlororados	50
Figura 2.31. – Mecanismo de degradação metabólica de PCBs por ação enzimática	56
Figura 2.32. – Fórmula para a determinação da toxicidade total de uma amostra	56
Figura 2.33. – Níveis de congéneres de PCDD/Fs detetados em várias regiões do globo (sedimentos e animais das regiões árticas)	61
Figura 2.34. – Níveis de PCDD/Fs e PCBs em mexilhões da espécie <i>Esosx lucius</i> , colhidos no lago Storvindeln Pike (Suécia)	62
Figura 2.35. – Variação dos efeitos relativos à exposição a PCDD/Fs e PCBs.	63
Figura 2.36. – Valores estimados das emissões de PCDD/Fs e PCBs em Portugal, durante o período de 1990 a 2009	68

Figura 2.37. – Emissões atmosféricas PCDD/Fs em Portugal por setor de atividade, durante o ano de 2009.....	70
Figura 2.38. – Equação para determinar a dose diária estimada para os seres humanos.....	74
Figura 2.39. – Complexidade da análise de uma amostra em função da sua matriz.	78
Figura 2.40. – Equipamentos extrativos (1 – Bateria de extração com a respetiva manta de aquecimento e 2 – Tubo de extração por Soxhlet).	81
Figura 2.41. – Sistema automático de digestão de amostras sólidas.	82
Figura 2.42. – Equipamentos de extração (1 – Sistema PowerPrep/FMs e 2 – Sistema ASE Dionex 200).	83
Figura 2.43. – Equipamento de extração de amostra por intermédio de micro-ondas.....	84
Figura 2.44. – Equipamentos de extração (1 – Agitador mecânico e 2 – Ampolas de decantação).	85
Figura 2.45. – Equipamentos de extração (1 – Rampa de extração em fase sólida e 2 – Membranas SPE de Octadecil – C18).....	86
Figura 2.46. – Separação dos congêneres de PCDDs numa coluna cromatográfica apolar do tipo DB-5 91	
Figura 2.47. – Separação dos congêneres de PCDFs numa coluna cromatográfica apolar do tipo DB-5 92	

EXPERIMENTAL

Figura 3.1. – Esquema simplificado das etapas envolvidas na determinação analítica de PCDD/Fs e PCBs.	106
Figura 3.2. – Sistema de extração de amostras sólidas ASE da marca Dionex 200.....	109
Figura 3.3. – Equipamentos de extração de amostras sólidas (Banho de ultra-sons, Vórtex e sonda de ultra-sons).	111
Figura 3.4. – Sistema de limpeza de amostras da marca Powerprep/FMS (<i>Fluid Management System</i>).	112
Figura 3.5. – Sistemas de evaporação de amostra em <i>vial</i> sob corrente de azoto.....	113
Figura 3.6. – Equação para a obtenção dos Fatores de Resposta Relativa.	114
Figura 3.7. – Cromatograma da Janela de separação dos congêneres hexaclorados de dibenzofuranos (HxCDFs).	115
Figura 3.8. – Cromatógrafo Gasoso acoplado a um detetor de Espectrometria de Massa de Alta Resolução (GC/HRMS).	118
Figura 3.9. – Depuração das amostras de mexilhão em água do mar durante 24 horas.....	120
Figura 3.10. – Medição e descarte do líquido presente na cavidade do manto dos mexilhões.	120
Figura 3.11. – Amostras de mexilhão (1 – Antes da liofilização e 2 – Durante a Liofilização).	121
Figura 3.12. – Trituração das amostras de mexilhão num triturador de mandíbulas.....	121

Figura 3.13. – Gaivota da espécie <i>Larus michahellis</i> ou gaivota-de-patas-amarelas.	122
Figura 3.14. – Teste para a determinação do tempo de incubação dos ovos de gaivota.	123
Figura 3.15. – Medição dos ovos de gaivota.	123
Figura 3.16. – Amostragem de PCDD/Fs e PCBs numa fonte fixa	125

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 4.1. – Sinal obtido nas janelas cromatográficas de separação dos congêneres de PCDD/Fs em função da temperatura da fonte de ionização do espectrómetro de massa.....	128
Figura 4.2. – Sinal obtido nas janelas cromatográficas de separação dos congêneres de PCBs com atividade de dioxina em função da temperatura da fonte de ionização do espectrómetro de massa.	129
Figura 4.3. – Equação para o cálculo do LD de um método com valores positivos para as amostras em branco.....	131
Figura 4.4. – Equação para o cálculo do LD de um método sem valores positivos para as amostras em branco.....	132
Figura 4.5. – Locais de amostragem das campanhas de monitorização de mexilhão (2008 e 2009).	148
Figura 4.6. – Gráfico do teor de PCDD/Fs e PCBs nas amostras de mexilhão (campanhas de 2008 e 2009).....	152
Figura 4.7. – Perfis isoméricos dos PCDD/Fs nas amostras de mexilhão (2.ª campanha de 2008).	153
Figura 4.8. – Perfis isoméricos dos PCDD/Fs nas amostras de mexilhão (campanha de 2009).....	153
Figura 4.9. – Cromatograma obtido durante na análise de PCDD/Fs numa amostra de mexilhão	154
Figura 4.10. - Perfis isoméricos dos PCBs nas amostras de mexilhão (2.ª campanha de 2008).	154
Figura 4.11. – Perfis isoméricos dos PCBs nas amostras de mexilhão (campanha de 2009).	155
Figura 4.12. - Cromatograma obtido durante na análise de PCBs com atividade de dioxina numa amostra de mexilhão PCBs	156
Figura 4.13. – Perfis isoméricos dos PCDD/Fs nas amostras de ovos de gaivota (campanhas de 2008 e 2009).....	158
Figura 4.14. – Cromatograma obtido durante na análise de PCDD/Fs numa amostra de ovos de gaivota	159
Figura 4.15. – Localização das unidades industriais que participaram na campanha de monitorização de efluentes gasosos.	161
Figura 4.16. – Teor de PCDD/Fs e PCBs (em I-TEQ) nos efluentes gasosos provenientes de fontes fixas do setor de atividade da produção e transformação de metais	163

Figura 4.17. – Perfis isoméricos dos PCDD/Fs nos efluentes gasosos provenientes de fontes fixas do setor de atividade da produção e transformação de metais.	164
Figura 4.18. – Perfis isoméricos dos PCBs nos efluentes gasosos provenientes de fontes fixas do setor de atividade da produção e transformação de metais.	165
Figura 4.19. – Cromatograma obtido durante na análise de PCDD/Fs numa amostra de efluente gasoso	166
Figura 4.20. – Cromatograma obtido durante na análise de PCBs com atividade de dioxina numa amostra de efluente gasoso	166
Figura 4.21. – Teor de Hexaclorobenzxeno nos efluentes gasosos provenientes de fontes fixas do setor de atividade da produção e transformação de metais.	167
Figura 4.22. – Equações utilizadas para o cálculo do fator de emissão, bem como a emissão total anual de PCDD/Fs, PCBs e Hexaclorobenzeno.	168

ÍNDICE DE TABELAS

A PRODUÇÃO DE QUÍMICOS, PERSPETIVA ATUAL

Tabela 1.1. – Evolução da produção de produtos químicos por país.....	4
Tabela 1.2. – Vendas de produtos químicos por bloco económico.	6

INTRODUÇÃO

Tabela 2.1. – Número de isómeros, fórmula molecular e massa molecular dos PCDD/Fs.	14
Tabela 2.2. – Cronologia evolutiva da síntese de PCDD/Fs.	18
Tabela 2.3. – Características do “Modelo de Zona” proposto por Dellinger e Taylor (1998) para os processos de combustão.	20
Tabela 2.4. – Energia de dissociação das ligações C-Cl e O-H nas moléculas de clorobenzenos e clorofenóis.	24
Tabela 2.5. – Períodos de meia vida de PCDD/Fs no organismo de seres humanos adultos	45
Tabela 2.6. – Períodos de meia vida de PCDDs em diferentes solventes.	47
Tabela 2.7. – Degradação do 2,3,7,8-TCDD em amostras de solos em função do tempo.	47
Tabela 2.8. – Períodos de meia vida dos congéneres 2,3,7,8-TCDD e OCDD em fase gasosa.	48
Tabela 2.9. – Características físicas dos congéneres de PCDD/Fs.	49
Tabela 2.10. – Número de isómeros, fórmula molecular e massa molecular dos PCBs.	51
Tabela 2.11. – Congéneres de PCBs e percentagem de cloro em óleos da empresa Monsanto Chemical Corporation, USA.	52
Tabela 2.12. – Fatores de Equivalência de Toxicidade (TEF) propostos por diferentes organismos	59
Tabela 2.13. – Teor de PCDD/Fs e PCBs em diferentes tipos de alimentos comercializados nos EUA.	64
Tabela 2.14. – Teor de PCDD/Fs e PCBs em alimentos comercializados em Portugal.	65
Tabela 2.15. – Teor de PCDD/Fs em diferentes tipos de alimentos.	66
Tabela 2.16. – Consumo diário de alimentos em Portugal e estimativa de PCDD/Fs assimilado.	67
Tabela 2.17. – Tipo de uso recomendado para solos contaminados com PCDD/Fs na Alemanha.	71
Tabela 2.18. – Efeitos provocados em cobaias derivados da administração oral do congénere de 2,3,7,8-TCDD.	72
Tabela 2.19. – Dose Diária Estimada (EDI) para os seres humanos	74
Tabela 2.20. – Massas moleculares de PCDD/Fs e seus interferentes.	95

EXPERIMENTAL

Tabela 3.1. – Programa de temperatura utilizado para a separação cromatográfica de PCDD/Fs e PCBs.	114
Tabela 3.2. – Massas e razões entre as massas dos iões na análise de PCDD/Fs e PCBs.	117

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 4.1. – Resultados da reprodutibilidade dos métodos implementados	130
Tabela 4.2. – Limites de deteção (LD) e quantificação (LQ) dos métodos implementados.	133
Tabela 4.3. – Resultados dos ensaios de extração por Soxhlet efetuados com o sedimento certificado DX-1.	136
Tabela 4.4. – Resultados dos ensaios de extração ASE/PLE efetuados com o sedimento certificado DX-1.	138
Tabela 4.5. – Resultados dos ensaios de extração por Soxhlet e ASE/PLE efetuados com o solo certificado CRM 529.	139
Tabela 4.6. – Resultados dos ensaios de extração efetuados em duas amostras com diferente teor de Carbono Orgânico Total.	141
Tabela 4.7. – Resultados dos ensaios de extração, através das técnicas de agitação por Vórtex, banho de ultra-sons e sonda de ultra-sons efetuados, com o sedimento certificado WMS-01.	143
Tabela 4.8. – Resultados dos ensaios de extração, através das técnicas de Soxhlet, banho e sonda de ultra-sons, efetuados com o sedimento certificado DX-1.	144
Tabela 4.9. – Resultados dos ensaios de extração por Soxhlet efetuados com espumas de poliuretano fortificadas.	146
Tabela 4.10. – Locais de amostragem das campanhas de monitorização de mexilhão (2008 e 2009)	148
Tabela 4.11. – Características físicas das amostras de mexilhão.	149
Tabela 4.12. – Características das amostras de mexilhão (água e lípidos) em peso fresco.	150
Tabela 4.13. – Teor de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina nas amostras de mexilhão.	151
Tabela 4.14. – Teor água, lípidos e PCDD/Fs nos ovos de gaivota.	157
Tabela 4.15. – Teor de PCDD/Fs e PCBs nos efluentes gasosos provenientes de fontes fixas do setor de atividade da produção e transformação de metais.	162
Tabela 4.16. – Fatores de emissão e emissão total anual de PCDD/Fs, PCBs e HCB (hexaclorobenzeno) em unidades industriais do setor de atividade da produção e transformação de metais.	169

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

1,2,3,4,6,7,8-HpCDD – 1,2,3,4,6,7,8-Heptaclorodibenzo-*p*-dioxina;
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF – 1,2,3,4,6,7,8-Heptaclorodibenzofurano;
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF – 1,2,3,4,7,8,9- Heptaclorodibenzofurano;
1,2,3,4,7,8-HxCDD – 1,2,3,4,7,8-Hexa clorodibenzo-*p*-dioxina;
1,2,3,4,7,8-HxCDF – 1,2,3,4,7,8-Hexaclorodibenzofurano;
1,2,3,6,7,8-HxCDD – 1,2,3,6,7,8-Hexa clorodibenzo-*p*-dioxina;
1,2,3,6,7,8-HxCDF – 1,2,3,6,7,8- Hexaclorodibenzofurano;
1,2,3,7,8,9-HxCDD – 1,2,3,7,8,9-Hexaclorodibenzo-*p*-dioxina;
1,2,3,7,8,9-HxCDF – 1,2,3,7,8,9- Hexaclorodibenzofurano;
1,2,3,7,8-PeCDD – 1,2,3,7,8-Pentaclorodibenzo-*p*-dioxina;
1,2,3,7,8-PeCDF – 1,2,3,7,8-Pentaclorodibenzofurano;
2,2',3,3',4,4',5-HpCB – PCB IUPAC #170;
2,2',3,4,4',5,5'-HpCB – PCB IUPAC #180;
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB – PCB IUPAC #189;
2,3,3',4,4',5-HxCB – PCB IUPAC #156;
2,3,3',4,4',5'-HxCB – PCB IUPAC #157;
2,3,3',4,4',-PeCB – PCB IUPAC #105;
2,3',4,4',5,5'-HxCB – PCB IUPAC #167;
2,3,4,4',5-PeCB – PCB IUPAC #114;
2,3',4,4',5-PeCB – PCB(IUPAC #118;
2',3,4,4',5-PeCB – PCB IUPAC #123;
2,3,4,6,7,8-HxCDF – 2,3,4,6,7,8-Hexaclorodibenzofurano;
2,3,4,7,8-PeCDF – 2,3,4,7,8-Pentaclorodibenzofurano;
2,3,7,8-TCDD – 2,3,7,8-Tetraclorodibenzo-*p*-dioxina;
2,3,7,8-TCDF – 2,3,7,8-Tetraclorodibenzofurano;
2,4,5-T – Ácido (2,4,5-triclorofenoxi)acético;
2,4-D – Ácido (2,4-diclorofenoxi)acético;
3,3',4,4',5,5'-HxCB – PCB IUPAC #169;
3,3',4,4',5-PeCB – PCB IUPAC #126;
3,3',4,4'-TCB – PCB IUPAC #77;
3,4,4',5-TCB – PCB IUPAC #81;

AEA – Agência Europeia do Ambiente;

APA – Agência Portuguesa do Ambiente;

ASE – *Accelerated Solvent Extraction*, ou em Português, Extração Acelerada por Solventes;

ADN – Ácido desoxirribonucleico;

C18 – Octadecil;

C8 – Octil;

CEE – Comunidade Económica Europeia;

CFCs – Clorofluorcarbonetos;

CLRTAP – *Convention on Long-range Transboundary Air Pollution*, ou em Português, Convenção sobre Poluição Atmosférica Transfronteira de Longo Alcance;

COT – Carbono Orgânico Total;

CQNUAC – Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre Alterações Climáticas;

CRM – *Certified Reference Materials*, ou em Português, Materiais de Referência Certificados;

DDT – 1,1,1-tricloro-2,2-di(4-clorofenil)etano;

DiCDD ou DCDD – Diclorodibenzo-*p*-dioxina;

ED10 – *Effective Concentration*, ou em Português, Concentração Efetiva;

EDI – *Estimated Daily Intake*, ou em Português, Dose Diária Estimada;

Eionet – Rede Europeia de Informação e de Observação do Ambiente;

EMSA – Agência Europeia de Segurança Marítima;

EPA ou USEPA – *Environmental Protection Agency USA*, ou em Português, Agência de Proteção do Ambiente dos EUA;

ETA – Estações de Tratamento de Águas;

EUA – Estados Unidos da América;

EU-ETS – *European Union Trading Scheme*, ou em Português, Mercado Europeu de Carbono;

FAO – *Food and Agriculture Organization*, ou em Português, Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação;

FRR – Fator de Resposta Relativa, ou em Inglês, *Relative Response Factor*;

GC/MS – *Gas chromatography–Mass Spectrometry*, ou em Português, Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa;

GC/HRMS – *Gas Chromatography High Resolution Mass Spectrometry*, ou em Português, Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Espectrometria de Massa de Alta Resolução;

GPS – *Global Positioning System*, ou em Português, Sistema de Posicionamento Global;

CG/ECD – *Gas Chromatography Electron Capture Detetor*, ou em Português, Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Captura Eletrónica;

HRGC/HRMS – *High Resolution Gas Chromatography High Resolution Mass Spectrometry*, ou em Português, Cromatografia Gasosa de Alta Resolução acoplada a um detetor de Espectrometria de Massa de Alta Resolução);

GC/LRMS – *Gas Chromatography Low Resolution Mass Spectrometry*, ou em Português, Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Espectrometria de Massa de Baixa Resolução;

GC/MS-MS – *Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry*, ou em Português, Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Espectrometria de Massa que opere em modo sequencial ou tandem, ou seja, que permita efetuar uma segunda fragmentação dos iões;

HxCDD – Hexaclorodibenzo-*p*-dioxina;

HpCDD – Heptaclorodibenzo-*p*-dioxina;

IARC – *International Agency for Research on Cancer*, ou em Português, Organização Mundial da Saúde para Pesquisa sobre o Cancro;

IPCC – *Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)*, ou em Português, Painel Intergovernamental para as Alterações Climáticas;

IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*, ou em Português, União Internacional de Química Pura e Aplicada;

JAMP – *Joint Assessment and Monitoring Programme of OSPAR Convention*;

JECFA – *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*, ou em Português, Comité Conjunto de Peritos em Aditivos Alimentares da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação e da Organização Mundial da Saúde;

LC/MS-MS – *Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry*, ou em Português, Cromatografia Líquida de Alta Resolução acoplada a um detetor de Espectrometria de Massa em modo sequencial ou tandem;

LD e LQ – Limite de Detecção e Limite de Quantificação;

LD₅₀ – *Median Lethal Dose*, ou em Português, Dose Letal Mediana;

LLE – *Liquid-Liquid Extraction*, ou em Português, Extração Líquido-Líquido;

LOAEL – *Lowest Observed Adverse Effect Level*, ou em Português, Nível Mínimo Com Efeitos Adversos Observados;

LRA – Laboratório de Referência do Ambiente;

MAE – *Microwave Assisted Extraction*, ou em Português, Extração Assistida por Micro-ondas;

MonoCDD – Monoclorodibenzo-*p*-dioxina;

mPmB – Substâncias muito persistentes e muito bioacumuláveis;

NAFTA – *North American Free Trade Agreement*, ou em Português, Tratado Norte-Americano de Livre Comércio;

NATO/CCMS – Organização do Tratado do Atlântico Norte/Comité sobre os Desafios das sociedades Modernas;

NOAEL – *No observed adverse effect level*, ou em Português, Nível Sem Efeitos Adversos Observados

NOEC – *Long-term No-Observed Effect Concentration*, ou em Português, Nível de Concentração Sem Efeitos Adversos Observados;

OCDD - Octaclorodibenzo-*p*-dioxina;

OCDE – Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico;

OCDF – Octaclorodibenzofurano;

OMS – Organização Mundial da Saúde;

ONGAs – Organizações Não Governamentais de cariz Ambiental;

ONGs – Organizações Não Governamentais;

ONU – Organização das Nações Unidas;

OSPAR *Convention – Convention for the Protection of the marine Environment of the North-East Atlantic*, ou em Português, Convenção para a Protecção do Meio Marinho do Atlântico Nordeste;

PAHs – Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos;

PBBs – Compostos Bifenilos Polibromados;

PBDEs – Éteres Difenílicos Polibromados;

PBT – Persistentes, bioacumuláveis e tóxicos;

PCBs – Compostos Bifenilos Policlorados;

PCDD/Fs – Policlorodenbenzo-*p*-dioxinas e Policlorodibenzofuranos;

PCDDs – Policlorodenbenzo-*p*-dioxinas;

PCDFs – Policlorodibenzofuranos;

PCDEs – Éteres Difenílicos Policlorados;

PCNs – Naftalenos Policlorados;

PCP – Pentaclorofenol;

PeCDD – Pentaclorodibenzo-*p*-dioxina;

PFK – Perfluorqueroseno;

PIB – Produto Interno Bruto;

PLE – *Pressurized Liquid Extraction*, ou em Português, Extração Líquida Pressurizada;

PNAC – Plano Nacional das Alterações Climáticas ;

PNALE – Plano Nacional de Atribuição de Licenças de Emissão;

PNUMA – Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente;

POPs – Poluentes Orgânicos Persistentes, ou em Inglês, *Persistent Organic Pollutants*;

PRTR – Registo Europeu das Emissões e Transferências de Poluentes;

PUF – *Poliurethane Foam*, ou em Português, Espuma de Poliuretano;

PVC – Policloroeteno ou policloreto de vinilo;

QET – Quantidade Equivalente de Toxicidade, ou em Inglês *Toxic Equivalence Quantity* – TEQ;

REACH – Registo, Avaliação, Autorização e Restrição de produtos químicos;

RO – Radical oxigénio;

SCFE – *Supercritical Fluid Extraction*, ou em Português, Extração por fluido supercrítico;

SDB-XC – Benzenodivinilestireno;

SIR/SIM – *Selected Ion Recording/ Selected Ion Monitoring*, ou em Português, operação modo de Ião Selecionado ou Monitorizado;

SPE – *Solid Phase Extraction*, ou em Português, Extração em Fase Sólida;

TEF – *Toxic Equivalence Factor*, ou em Português, Fator de Equivalência de Toxicidade;

TCDD – Tetraclorodibenzo-*p*-dioxina;

TDI – *Tolerable Daily Intake*, ou em Português, Dose Diária Tolerada;

TriCDD – Triclorodibenzo-*p*-dioxina;

UE – União europeia;

UICN - União Internacional para a Conservação da Natureza;

WGS84 – *World Geodetic System*, ou em Português, Sistema Geodésico Global (1984 e revisto em 2004);

WHO – *World Health Organization*, ou em Português, Organização Mundial da Saúde;

WWF – *World Wide Fund for Nature*, ou em Português, Fundo Mundial para a Natureza.

PRODUÇÃO DE QUÍMICOS, PERSPETIVA ATUAL

1.1. CRONOGRAFIA

Desde os primórdios da génese humana que a Química tem desempenhado um papel preponderante no avanço científico e tecnológico da humanidade. Verifica-se pois, nomeadamente através da análise histórica, que bem cedo os seres humanos procuram desenvolver e dominar novas tecnologias, por forma a melhorar o seu nível de bem-estar e conforto. Neste âmbito, o fogo aparece como um dos primeiros exemplos de uma reação química despoletada de forma intencional pelo ser humano (a reação de combustão). Esta nova capacidade produziu benefícios enormes na espécie humana, tendo possibilitado uma melhor confeção dos alimentos e um nível de conforto acrescido, nomeadamente em termos de aquecimento nas estações de frias. Note-se que a humanidade conseguiu controlar esta tecnologia, que hoje nos parece incipiente e vulgar, acerca de 500000 anos atrás [1].

Existem diversos exemplos de aplicações práticas ao nível da tecnologia desenvolvida pelos seres humanos, durante os primórdios da civilização, que podem ser considerados como precursores do ramo da ciência designado por química. Contudo, pela sua importância e efeito, salientam-se dois, que estando relacionados com a “química” conduziram a uma verdadeira revolução, transformando progressivamente o modo de vida nómada em sedentária e, por conseguinte, impulsionando a criação dos primeiros aglomerados populacionais – respetivamente a cerâmica e a metalurgia.

A cerâmica, cuja utilização remonta a tempos pré-históricos¹, permitiu ao ser humano armazenar alimentos e água por períodos de tempo consideráveis. Tal ação possibilitou uma verdadeira melhoria nas condições de vida, pois facultou a possibilidade de guardar os recursos disponíveis para épocas de seca ou de menor abundância.

Relativamente à metalurgia, salienta-se que esta teve a sua génese provavelmente na antiga Pérsia ou antigo Egipto (acerca de 6000 a 5000 A.C.). Atualmente, supõe-se que a primeira obtenção de cobre metálico ocorreu através da queima, em fornos de cozer cerâmica, de algumas formas minerais do referido metal, tais como a azurite ou a malaquite. O cobre foi também o primeiro metal utilizado pelo ser humano para o fabrico de objetos ou ferramentas, nomeadamente pelo uso do bronze (liga de cobre e estanho). Deste modo a metalurgia, tal como a cerâmica, teve um impacto significativo nas condições de vida dos seres humanos, uma vez, que permitiu o fabrico de ferramentas e utensílios importantes, tais como, martelos, arados e armas, entre outros objetos.

Avançando alguns séculos focamos a atenção na antiga Grécia. Aqui, os pensadores da altura propuseram pela primeira vez uma explicação para a constituição da matéria. Sobejamente conhecidas, a teoria dos quatro elementos de Aristóteles e Platão (Séc. IV e V A.C.) e a teoria atómica de Leucipo e seu discípulo Demócrito (Séc. IV e V A.C.), postulavam pela primeira vez, quais eram as

¹ As peças de cerâmica mais antigas que se conhecem foram encontradas na República Checa, tendo sido datadas, como pertencendo ao período de 24500 A.C.. Outras peças de cerâmica encontradas no Japão, foram datadas, como pertencendo ao período de há proximadamente de 8000 anos.

unidades fundamentais constituintes da matéria. Ainda neste contexto, a última teoria referida abordava também o problema da continuidade da matéria.

Os tempos prosseguiram, e até ao século XVII circunscreveram o seu campo de ação em redor de uma pseudociência denominada por alquimia². Esta centrava as suas atenções na procura da pedra filosofal, ou seja, um método hipotético capaz de transformar os metais em ouro, de certo modo, uma alternativa ao famoso “toque de Midas”³. Embora a alquimia não fosse uma ciência, no sentido restrito do termo, foi importante para assentar os pilares básicos e promover o desenvolvimento da futura química experimental. Tal aconteceu, em particular, no início do século XVI quando Robert Boyle e Isaac Newton retomaram as bases da teoria atómica grega. Assim, em meados do século XVIII a química adquiriu definitivamente as características de ciência experimental ficando fortemente ligada à observação e ao método científico. Com efeito, foi nesta altura, que foram desenvolvidos alguns dos novos métodos de medição, permitindo por conseguinte, estudar e conhecer com maior detalhe alguns fenómenos cruciais, tais como, a combustão da matéria, a Lei da conservação da massa e a Lei das proporções definidas.

Embora a química, tal como qualquer ciência, tenha resultado de avanços e recuos sucessivos ao longo do tempo, foi essencialmente durante o século XVIII, que foram estabelecidos os seus pilares fundamentais, tornado-a assim uma ciência moderna. Foi também por esta altura que se reconheceu, pela primeira vez, a importância do elemento carbono na complexidade dos compostos orgânicos. Já no século XX, assiste-se ao desenvolvimento extraordinário da indústria química, os métodos de síntese de compostos orgânicos evoluem e com eles verifica-se um incremento vertiginoso na produção de todo um universo de novos compostos. Em concreto, verifica-se que a produção industrial de compostos orgânicos teve o seu início por volta de 1850, mas somente durante os primórdios do século XX é que efetivamente alcançou a produção em escala, suplantando o volume de produção dos compostos inorgânicos.

Assim, no início do século passado, a produção em massa de compostos orgânicos parecia solucionar alguns dos problemas que desde sempre foram causando infortúnio ao ser humano, nomeadamente

² A relação entre a ciência e pseudociência é já bastante antiga, regra geral, existe uma relação histórica de precedência entre a primeira e a segunda. Note-se por exemplo, que a numeralogia desenvolveu-se antes da matemática, a astrologia antes da astronomia e a alquimia antes da química. Salienta-se portanto uma característica fundamental que permite distinguir facilmente as duas. A ciência “é a procura da mentira, do erro, da inconsistência” (Karl Popper) e esse erro deriva fundamentalmente da falta de concordância entre a teoria e a observação experimental dos fenómenos. Esta abertura face à descoberta do erro induz um espírito crítico nos cientistas que os coloca em permanente estado de alerta, perante os factos que recolhem uns dos outros. Um segundo traço distintivo é que a ciência é cumulativa, isto é, incorpora as novas informações depois de devidamente validadas. Este processo de assimilação contínua e sucessiva é importantíssimo pois permite adicionar aos poucos algo de novo sem prejudicar muito do que existe de velho, ou seja, alguns elementos do saber científico são provisórios, contudo não devem ser abandonados ou removidos antes de se colocar algo no seu lugar. Por outro lado a pseudociência é estática não apresenta o carácter dinâmico da ciência, por exemplo, a astrologia de hoje é no essencial idêntica aquela de há de um século atrás, eventualmente será feita com recurso a computadores mas não é por isso que rejuvenesce. Também não existe a persistente busca do erro na pseudociência, um astrólogo não se expõe à crítica dos seus pares nem tão pouco corrige as afirmações dos outros. [2]

³ Certa vez Baco (ou Dionísio, deus do vinho) deu por falta de seu mestre e pai de criação, Sileno. O velho que andara bebendo tendo-se perdido no caminho, foi encontrado por alguns camponeses, que o levaram ao seu rei (Midas). Midas reconheceu-o e tratou-o com hospitalidade, conservando-o em sua companhia durante dez dias. No décimo-primeiro dia, levou Sileno de volta e entregou-o são e salvo a seu pupilo (Baco). Baco ofereceu então, a Midas, o direito de escolher a recompensa que desejasse, independentemente de qualquer que fosse ela. Assim, Midas pediu a Baco que sempre que tocasse em algo esse material se convertesse imediatamente em ouro. Baco consentiu, embora pesaroso por Midas não ter feito uma escolha melhor.

as pragas, as doenças e o saneamento. Compostos como a borracha, as fibras, os plásticos, o 1,1,1-tricloro-2,2-di(4-clorofenil)etano (DDT), os Compostos Bifenilos Policloroados (PCBs), Éteres Difenílicos Polibromados (PBDEs), os Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (HPAs, ou em inglês PAHs), entre outros, embora tenham permitido expandir imenso o âmbito das aplicações industriais da síntese orgânica e possibilitado a resolução de importantes problemas, também criaram situações ambientais sem precedentes. Com efeito, alguns deles tornaram-se contaminantes cada vez mais presentes nos diferentes sistemas ambientais (solo, ar, água, fauna e flora), uma vez, que a sua produção em larga escala, aliada às características de persistência, potenciaram sua distribuição por todo o globo terrestre, mesmo em regiões muito afastadas das fontes de origem, tais como as regiões árticas [3,4]. O fabrico intensivo de algumas famílias de compostos orgânicos (em particular os compostos organohalogenados) e as suas características químicas intrínsecas, tais como, a elevada estabilidade química, promoveram a criação de problemas ambientais significativos que atualmente preocupam as autoridades ambientais, influenciando importantes decisões políticas ao nível da legislação em matéria de ambiente e saúde.

É neste contexto, mais precisamente no âmbito dos compostos organoclorados, que se insere o trabalho desenvolvido nesta Tese Doutoral, designadamente no desenvolvimento de novas abordagens integradas de preparação e análise de amostras ambientais. Desta forma, espera-se que as ferramentas desenvolvidas possam ser utilizadas no futuro para a determinação de compostos organoclorados, tais como, as Policlorodibenzo-*p*-dioxinas (PCDDs), os Policlorodibenzofuranos (PCDFs) e os Compostos Bifenilos Policlorados com atividade de dioxina (*dioxin-like* PCBs).

1.2. EVOLUÇÃO MACROECONÓMICA MUNDIAL

Atualmente a produção mundial de compostos orgânicos, e entre estes os organoclorados, assume proporções significativas. Sabe-se também, que a introdução em massa de qualquer substância no meio ambiente, ainda que as suas características de segurança sejam negligenciáveis, produzirá sempre efeitos sobre os diversos sistemas ambientais (ar, solo, água, fauna e flora). A figura 1.1 apresenta o crescimento do PIB e da população mundial, desde 1750 até ao ano 2000.

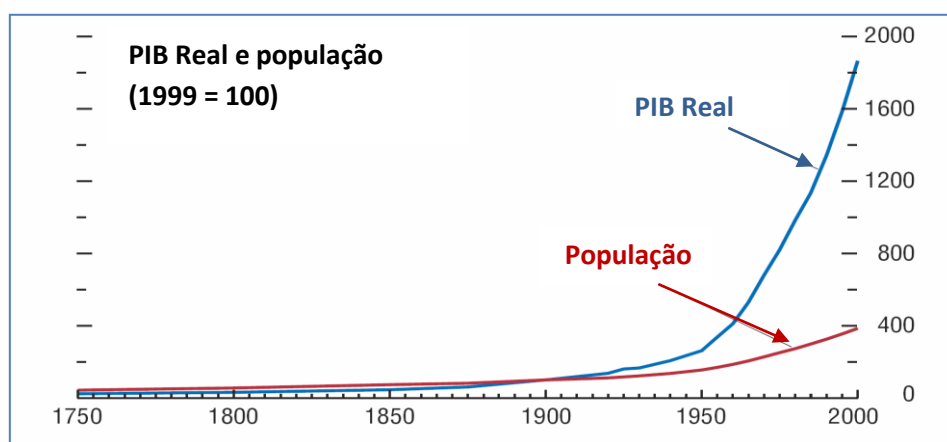


Figura 1.1. – Evolução do PIB e população mundiais desde 1750 até ao ano 2000. [5]

A figura 1.1, mostra que desde 1900 até 2000, tanto a população como o PIB tiveram um crescimento acentuado, podendo mesmo afirmar-se que a população mundial duplicou enquanto que o PIB cresceu cerca de 10 vezes. Este crescimento do PIB teve reflexos em diversos setores produtivos, tais como, a indústria química e outros, pressionando por conseguinte, o incremento da produção anual de químicos.

Na tabela 1.1 apresenta-se a evolução da produção de produtos químicos por país, desde 1850 até ao ano 2000.

Tabela 1.1. – Evolução da produção de produtos químicos por país. [7]

Produção de Químicos no mundo desde 1850 (valores em bilhões de dólares americanos)*										
Ano	EUA						Alemanha		Resto Do Mundo	
1850	0.005									
1860	0.0047									
1870	0.0194									
1877							0.6	20%	3	
1880	0.0386									
1890	0.0594									
1895							1			
1900	0.0626		Reino Unido		Japão				França	
1905	0.0921									
1913	3.4	34%	1.1	11%	0.15	2%	2.4	24%	0.85	9%
1927	9.45	42%	2.3	10%	0.55	2%	3.6	16%	1.5	7%
1935	6.8	32%	1.95	9%	1.3	6%	3.7	18%	1.6	8%
1938	8.0	30%	2.3	9%	1.5	6%	5.9	22%	1.5	6%
1951	71.8	43%	14.7	9%	6.5	4%	9.7	6%	5.9	4%
1970	49.20	29%	7.60	4%	15.30	9%	13.60	8%	7.20	4%
1980	168.34	23%	31.77	4%	79.23	11%	59.29	8%	38.60	5%
1990	309.10	24%	44.70	4%	162.80	13%	100.50	8%	66.30	5%
2000	460.00	28%	50.70	3%	218.40	13%	100.00	6%	73.00	4%

TOTAL DA PRODUÇÃO MUNDIAL (referente a 2000) = 2571, 10 bilhões de dólares americanos

* Os valores são apresentados em bilhões de dólares americanos, excepto para os anos de 1870, 1913, 1927, 1935 e 1939 (bilhões de Marcos do Reich) e 1951 (bilhões de marcos germânicos);

A segunda coluna para cada país corresponde à fração da venda mundial desse país;

Uma vez que a definição estatística de Indústria Química não é a mesma em todos os países os valores da Tabela devem ser interpretados com estimativas e não como números exactos. A fração dos EUA correspondente a 1913 é exagerada, uma vez, que ao contrário dos valores estimados para a Europa, este inclui a produção resultante do setor da refinação de petróleo.

A tabela 1.1, permite constatar que entre 1850 e 2000, a produção de produtos químicos cresceu quase que exponencialmente, alcançando no ano 2000, o valor de 2571,10 biliões de dólares. Verifica-se também, que no início do século XX (mais concretamente, em 1913) os cinco principais países produtores de produtos químicos eram os EUA (34%), a Alemanha (24%), o Reino Unido (11%), a França (9%) e o Japão (2%). Salienta-se também, que tal como se informa na tabela 1.1, a fração correspondente ao EUA é um pouco exagerada, pelo que em 1913, o principal produtor mundial de químicos era a Alemanha [7]. Contudo é interessante verificar, através da análise da figura 1.2, que dados mais recentes referentes a 2009, mostram que atualmente, os cinco principais países produtores de produtos químicos são a China (22%), os EUA (19%), o Japão (6%), a Alemanha (6%) e a França (4%). Assim, constata-se que o Reino Unido saiu do top 5, tendo entretanto emergido uma nova potência mundial que se apresenta como sendo o principal produtor de produtos químicos, designadamente a China. Na figura 1.2, mostra-se a contribuição em biliões de euros para a venda mundial de produtos químicos, durante o ano de 2009, nos 30 principais países cuja contribuição é mais significativa.

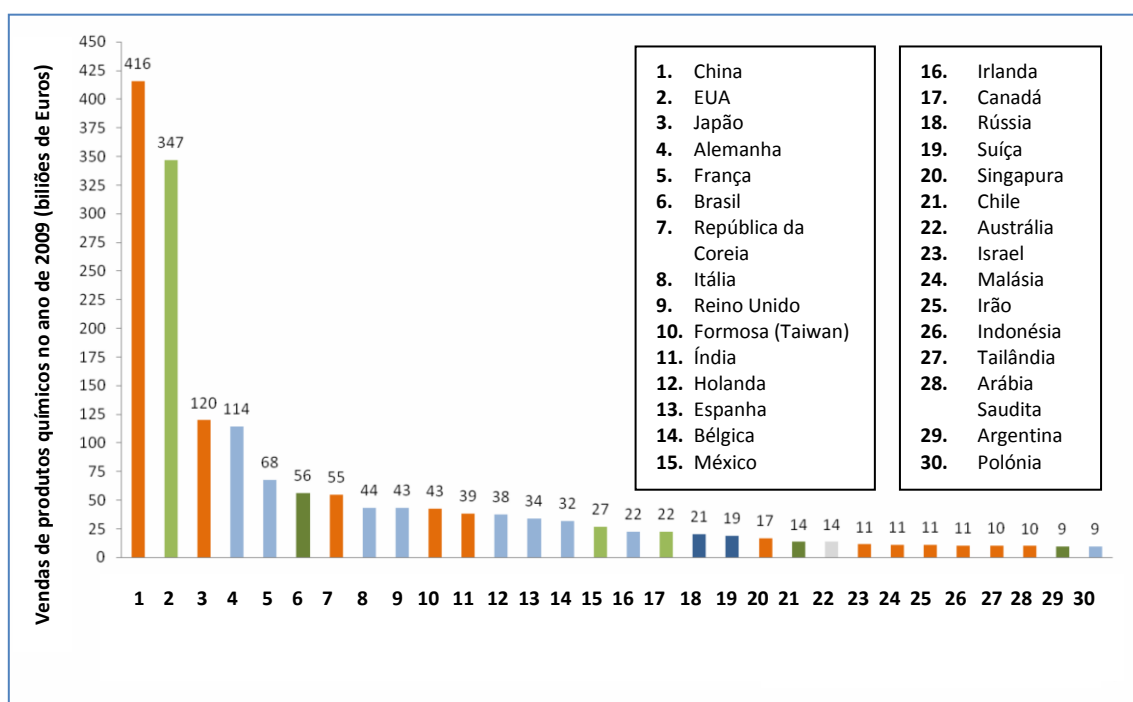


Figura 1.2. – Vendas de produtos químicos, durante o ano de 2009, nos 30 principais países produtores. [8]

Na figura 1.3, apresenta-se a produção de produtos químicos por bloco económico, desde 1999 até o ano de 2009.

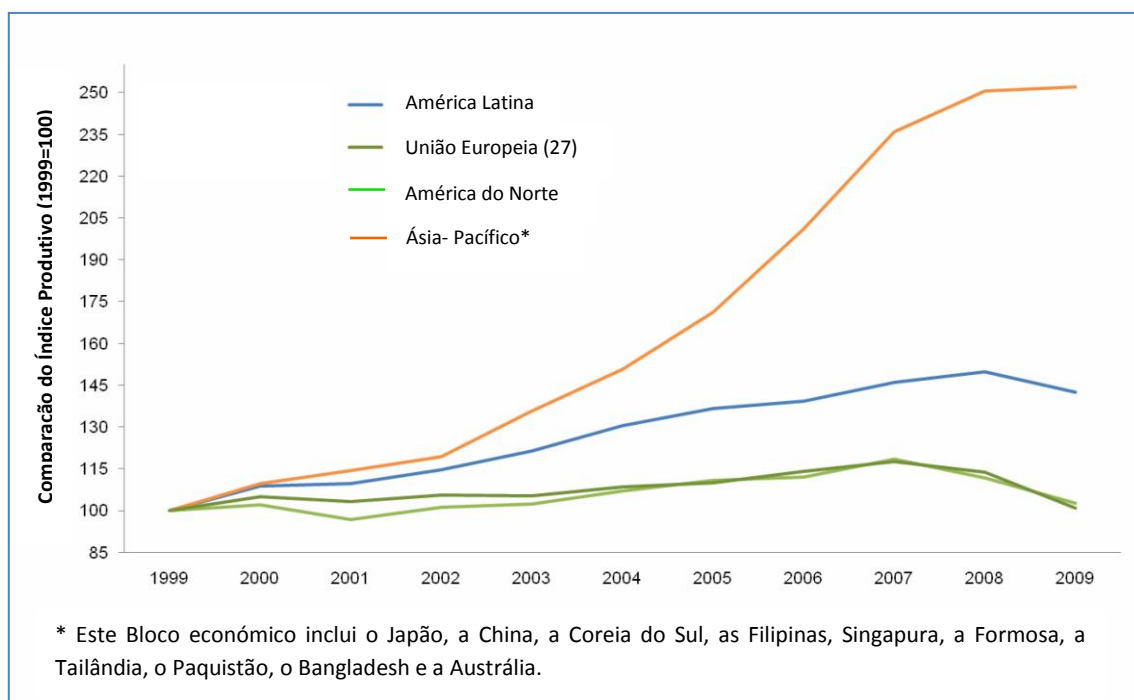


Figura 1.3. – Produção de produtos químicos por bloco económico desde 1999 até o ano de 2009. [8]

Considerando apenas quatro grandes blocos comerciais, designadamente, a América do Norte, a América Latina, a Ásia-Pacífico e a União Europeia a 27, verifica-se pela análise da figura 1.3, que desde 1999 até 2009, o crescimento da produção de produtos químicos acelerou de forma significativa. A referida figura 1.3, mostra ainda, que o bloco Ásia-Pacífico foi aquele que teve uma produção mais acentuada desde o ano de 1999 até 2009. Verifica-se contudo, que a partir do ano de 2008, a produção anual de produtos químicos sofreu uma ligeira queda em três dos blocos mantendo-se estável no bloco Ásia-Pacífico. Esta quebra está relacionada com o início da crise económica mundial de 2008-2009⁴. A tabela 1.2, sistematiza em valores específicos a informação representada na figura 1.3.

Tabela 1.2. – Vendas de produtos químicos por bloco económico. [8]

BLOCO ECONÓMICO	VENDAS EM 2009 (BILHÕES DE EUROS)	NÚMERO DE PAÍSES DO BLOCO	TOTAL DE VENDAS (PERCENTAGEM)
UE-27	404	9	22%
Resto da Europa	39	2	2%
NAFTA ⁵	396	3	21%
América Latina	79	3	4%
Ásia	753	12	40%
Outros	14	1	1%
TOTAL	1685	30	90%

⁴ Crise financeira internacional, precipitada pela falência do tradicional banco de investimento dos EUA, o Lehman Brothers. A falência deste banco, que foi fundado em 1850, teve um efeito dominó sobre outras instituições financeiras desencadeando um processo conhecido como "crise dos subprimes".

Verifica-se então que atualmente (dados referentes ao ano de 2009), o total de vendas de produtos químicos nos 30 países cuja produção é mais significativa, representa cerca de 1685 biliões de Euros (valor que corresponde a 90% da produção mundial, e que representa, mais de 400 milhões de toneladas de químicos). Verifica-se também, que o bloco Ásia-Pacífico, a União Europeia (UE) e a NAFTA⁵ (*North American Free Trade Agreement*) são os principais contribuidores para este número.

Por forma, a clarificar melhor qual é a efetiva contribuição de cada bloco económico, apresenta-se a figura 1.4. Nesta, está discriminada a venda anual de produtos químicos durante o ano de 2009.

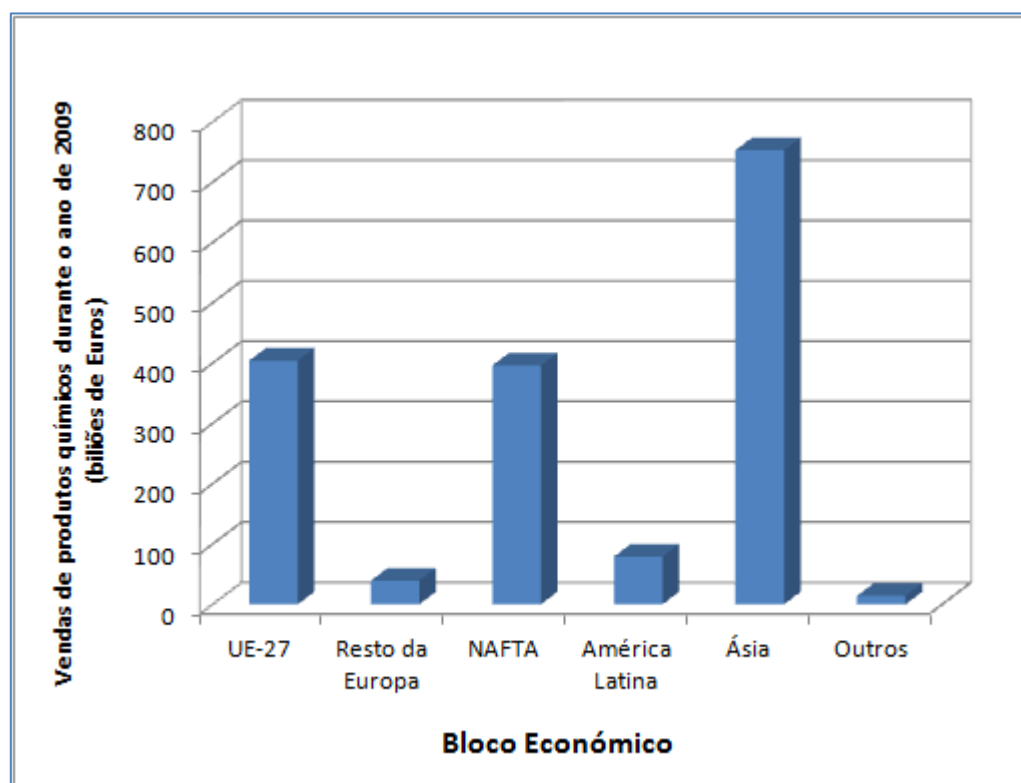


Figura 1.4. – Vendas de produtos químicos por bloco económico durante o ano de 2009. [8]

1.3. PREVISÕES E CRESCIMENTO FUTURO

Tal como tem vindo a suceder, prevê-se que no futuro a produção de produtos químicos continue a aumentar. Existem alguns fatores que promovem esse incremento, nomeadamente o crescimento populacional mundial, bem como a melhoria das condições de vida e de bem-estar das populações de países emergentes, tais como, a China e a Índia.

⁵ *North American Free Trade Agreement*, ou Tratado Norte-Americano de Livre Comércio – é um tratado de livre comércio que envolve o Canadá, o México e os Estados Unidos da América, cujo objectivo consistiu em facilitar o comércio de mercadorias entre seus os países membros.

Uma das categorias que normalmente se utiliza para avaliar a perspetiva de evolução da produção de químicos é a dos fertilizantes⁶. Esta categoria é utilizada porque está relacionada com a produção agrícola, sendo que a agricultura induz pressões diretas e indiretas sobre o fabrico de produtos químicos (inseticidas, herbicidas e fungicidas, entre outros). Na figura 1.5 apresentam-se as previsões na evolução do consumo de fertilizantes até ao ano de 2030. Tal como seria espetável, tendo em consideração os dados relativos à produção de químicos, a China assume-se como o principal consumidor de fertilizantes. É também interessante observar que os dados mostram que, desde 1981 até 1999, ocorreu uma redução do consumo de fertilizantes nos países de transição e nos industrializados. Neste sentido, enquanto que nos países de transição as previsões apontam para que o consumo de fertilizantes estabilize até 2030, relativamente aos valores de 1999, nos países industrializados prevê-se um incremento do consumo. Qualquer aumento de consumo de fertilizantes implicará uma pressão sobre os produtores de produtos químicos, uma vez, que a produção destas substâncias resulta de reações de síntese (por exemplo, o processo mais vulgar de produção do nitrato de cálcio envolve a reação entre o ácido nítrico e o carbonato de cálcio).

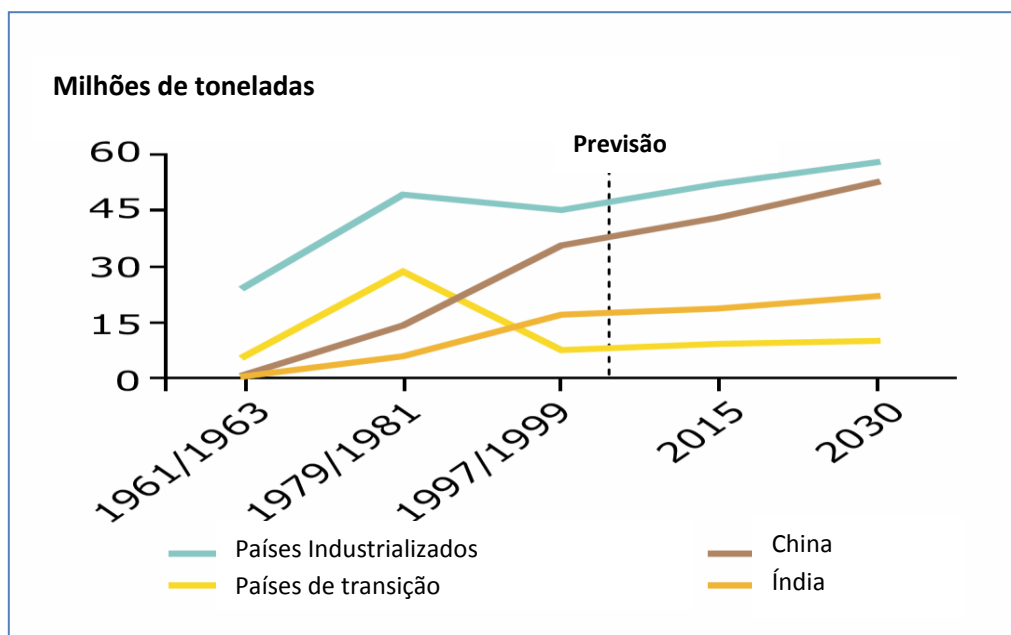


Figura 1.5. – Projeções futuras sobre o consumo de fertilizantes até ao ano de 2030. [8]

1.4. CONSIDERAÇÕES ADICIONAIS

Atualmente sabe-se, que alguns dos compostos químicos que apresentam características de persistência, bioacumulação e toxicidade (critério PBT), tais como, os PCDDs, PCDFs e PCBs com atividade de dioxina, estão associados ao aparecimento de diversos efeitos adversos sobre a saúde humana e o meio ambiente, designadamente à indução mal formações congénitas, cancro, perturbações no desenvolvimento neurológico, feminização/masculinização de certas espécies de

⁶ Também designados por adubos sintéticos são compostos químicos que visam suprir as deficiências em substâncias vitais à sobrevivência dos vegetais, tais como, o Azoto, o Fósforo e o Potássio, entre outros.

seres vivos, entre outros. Deste modo, o crescimento acelerado da produção mundial de produtos químico para uso comercial, pode potenciar um incremento na libertação de vários dos seus subprodutos, em particular os compostos organoclorados anteriormente referidos (PCDD, PCDFS e PCBs). Neste contexto, pode ser espetável de futuro, um aumento significativo de alguns dos efeitos adversos ao nível da saúde das populações e do ambiente. Torna-se pois, importante conhecer e avaliar os riscos decorrentes da crescente exposição humana a estas substâncias, bem como criar mecanismos legislativos que permitam acautelar algumas das suas utilizações. Alguns princípios importantes, tais como, o princípio da precaução e da prevenção são cruciais, uma vez, que atualmente existem substâncias para as quais os dados sobre a sua segurança ainda são escassos.

Uma boa gestão dos riscos, baseada numa combinação de normas jurídicas e informações científicas, acerca das características das substâncias químicas, é essencial no sentido de promover o debate público sobre o binómio custo/benefício e, conseqüentemente, informar o público sobre os efeitos adversos destas substâncias. A União Europeia (UE) tem sido bastante ativa neste campo, estabelecendo todo um quadro legislativo aplicável ao fabrico, utilização e importação de substâncias químicas, designadamente através do Regulamento (CE) n.º 1907/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho, relativo ao registo, avaliação, autorização e restrição dos produtos químicos (mais conhecido por Regulamento REACH) [9]. Esta norma legislativa tem como objetivo, assegurar um elevado nível de proteção da saúde humana e do ambiente e garantir a livre circulação das substâncias químicas. Assim, a promoção da proteção da saúde humana e do ambiente que decorre da utilização de produtos químicos exige que os importadores e fabricantes disponibilizem informações relevantes acerca das propriedades das substâncias que introduzem no mercado. De acordo com o referido regulamento, para assegurar uma boa gestão do risco da utilização de produtos químicos é necessário e obrigatório o registo das substâncias consideradas como perigosas, bem como a progressiva substituição destas por outras de menor nível de perigosidade.

Bibliografia

- [1] História de tudo. <http://www.historiadetudo.com/quimica.html>, acedido em Maio de 2011;
- [2] Fiolhais C. (2002). A coisa mais preciosa que temos. Gradiva Publicações, 2.ª Edição;
- [3] Ericson I., Hagberg J., Dam M., Bavel B. Van, Jensen J., Danielsen J., Lindström G. (2005). PCDFs, PCDDs, Non-ortho PCBs and Mono-ortho PCBs in Northern Fulmars from the Faroe Islands. Organohalogen Compounds, EMV, 972-976;
- [4] Polder A., Gabrielsen G., Odland J., Savinova T., Tkachev A., Løken K., Skaare J. (2008). Spatial and temporal changes of chlorinated pesticides, PCBs, dioxins (PCDDs/PCDFs) and brominated flame retardants in human breast milk from Northern Russia. Science of The Total Environment, 391, 41–54;
- [5] International Monetary Fund. (2000). World Economic and Financial Surveys –World Economic Outlook, Asset Prices and the Business Cycle. <http://www.imf.org/external/pubs/ft/weo/2000/01/pdf/chapter5.pdf>, acedido em Abril de 2011;
- [7] Chemische Industrie, Volume IV (1952), Haber (1958 e 1971), VCI (The German Chemical Industry in Figures) Historical Summary (1977), CECIF (European Chemical Industry Council), Historical Sequence e American Chemical Council, Guide to the Business of Chemistry (2001). http://www.professor-murmann.net/Murmann_OEEH.pdf, acedido em Abril de 2011;
- [8] CECIF - European Chemical Industry Council (2009). <http://www.cefic.org/Facts-and-Figures/>, acedido em Abril de 2011;
- [9] Regulamento (CE) n.º 1907/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho, relativo ao registo, avaliação, autorização e restrição dos produtos químicos (REACH), que cria a Agência Europeia dos Produtos Químicos, que altera a Directiva 1999/45/CE e revoga o Regulamento (CEE) n.º. 793/93 do Conselho e o Regulamento (CE) n.º 1488/94 da Comissão, bem como a Directiva 76/769/CEE do Conselho e as Directivas 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE e 2000/21/CE da Comissão. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:136:0003:0280:pt:PDF>, acedido em Abril de 2011.

INTRODUÇÃO

2.1. OS COMPOSTOS ORGÂNICOS CLORADOS

Sabe-se hoje, desde 1940 que alguns compostos organohalogenados, tais como, os PCDDs, os PCDFs e os PCBs têm vindo-se a acumular, de forma sistemática e progressiva, nos diferentes sistemas ambientais [1,2,3,4]. Tendo estas substâncias características PBT⁷ (persistentes, bioacumuláveis e tóxicas) cedo se tornou evidente que seria necessário tomar medidas adequadas para reduzir a sua produção e, conseqüentemente, prevenir o seu efeito no meio ambiente. Algumas das medidas consistiram na proibição do fabrico ou introdução destas substâncias no mercado, tal como sucedeu no caso dos PCBs. Assim, desde finais da década de 1970, que estes compostos foram proibidos de ser fabricados em diversos países industrializados, no entanto constata-se, que quer os PCBs quer outros contaminantes orgânicos produzidos pelo ser humano, continuam ainda hoje a ser detetados em amostras de tecidos de seres vivos, em quase todas as regiões do planeta. Verifica-se assim, que o desafio em termos de regulação legislativa, nomeadamente no campo da indústria, da saúde e do ambiente, está longe de estar concluído.

2.1.1. POLICLORODIBENZO-*p*-DIOXINAS E POLICLORODIBENZOFURANOS (PCDD/Fs)

Os compostos PCDD/Fs são dois grupos de substâncias organocloradas aromáticas e policíclicas que se denominam respetivamente por policlorodibenzo-*p*-dioxinas (PCDD) ou policlorodibenzofuranos (PCDF). Habitualmente é comum na literatura, encontrar-se a denominação simplista de “dioxina” para fazer referência a uma PCDD. Este termo não é correto, uma vez, que a designação dioxina se refere a um anel heterocíclico constituído por seis membros, quatro de carbono e os dois de oxigénio. Tal como se verifica, pela análise da figura 2.1, os átomos de oxigénio podem ocupar duas posições distintas originando uma *orto*-dioxina (1,2-dioxina) ou uma *para*-dioxina (1,4-dioxina). Neste sentido, a utilização da nomenclatura simplista “dioxina” não permite evidenciar qual é a estrutura em questão, pelo que nalguns casos, pode criar confusão. Assim, a anterior designação deve ser evitada e substituída pela nomenclatura correta, ou seja, por policlorodibenzo-*p*-dioxina ou policlorodibenzo-*o*-dioxina, consoante o caso. Contudo, e tal como foi referido, em virtude das características estruturais e de um certo laxismo, tornou-se comum utilizar os termos dioxina ou furano, quando se pretende fazer referência a uma policlorodibenzo-*p*-dioxina ou a um policlorodibenzofurano.

⁷ Em conformidade com o Regulamento n.º 253/2011, de 15 de Março, consideram-se substâncias PBT (persistentes, bioacumuláveis e tóxicas) qualquer substância que cumpra os critérios enunciados no anexo I deste documento. [5]

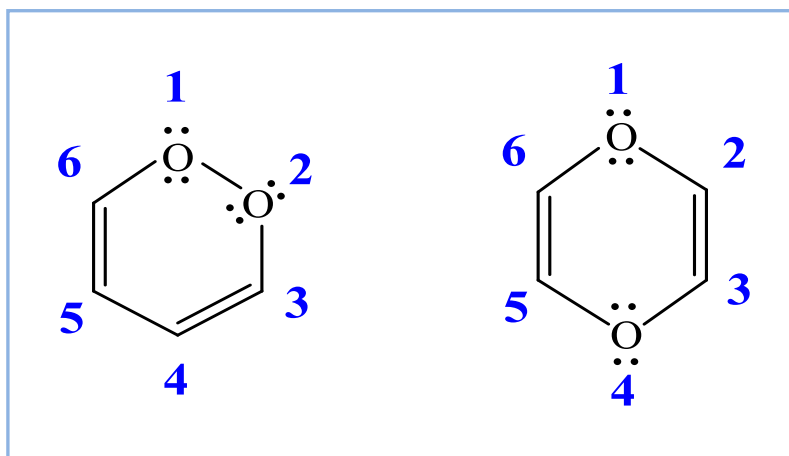


Figura 2.1. – Estruturas das *o*-dioxina (1,2-dioxina) e *p*-dioxina (1,4-dioxina), respetivamente.

Relativamente aos PCDFs (pentecentes ao grupo dos furanos), verifica-se que a sua estrutura consiste num anel heterocíclico constituído por cinco átomos, quatro de carbono e um de oxigénio. Na figura 2.2, apresenta-se a estrutura de um furano.

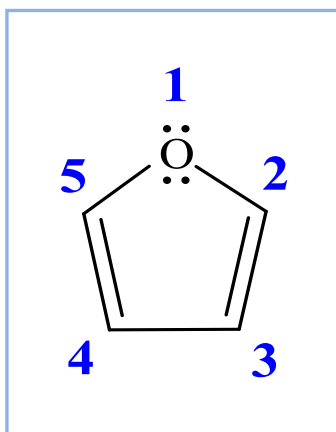


Figura 2.2. – Estrutura do furano.

Verifica-se portanto, que cada um dos seus congéneres⁸ de PCDD e PCDF contém na sua estrutura uma *p*-dioxina ou um furano, respetivamente.

Os PCDD/Fs compreendem um total de 210 compostos de propriedades e estruturas semelhantes, dos quais 75 são PCDDs e 135 são PCDFs. Constituídos apenas por átomos de hidrogénio, carbono, oxigénio e cloro, apresentam uma estrutura trianelar, que é composta por dois anéis de benzeno unidos por intermédio de um ou dois átomos de oxigénio, conforme se trate de um furano ou de uma *p*-dioxina, respetivamente (figuras 2.3 e 2.4).

⁸ O termo congénere utiliza-se para fazer referência a cada um dos diferentes compostos das famílias de policlorodibenzo-*p*-dioxinas e policlorodibenzofuranos.

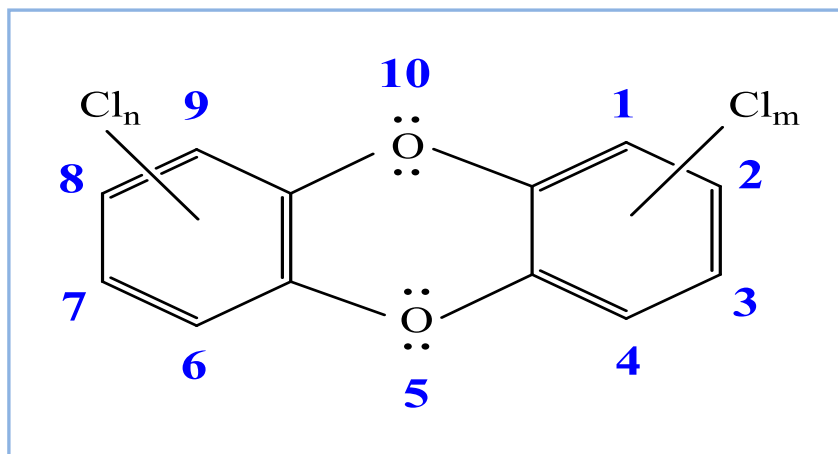


Figura 2.3. – Estrutura das policlorodibenzo-*p*-dioxinas ($1 \leq n+m \leq 8$).

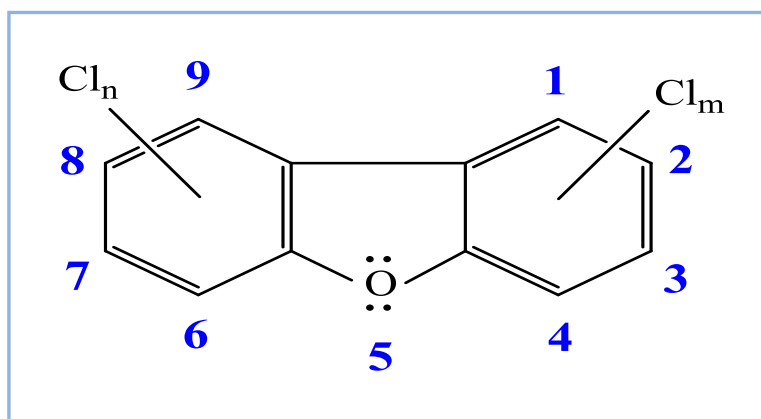


Figura 2.4. – Estrutura dos policlorodibenzofuranos ($1 \leq n+m \leq 8$).

As anteriores figuras 2.3 e 2.4, contêm as estruturas correspondentes aos congêneres de PCDD/Fs. Estas permitem constatar, que o número de átomos de cloro de cada PCDD ou PCDF pode variar entre um e oito, conferindo aos compostos diferentes níveis de toxicidade. No que respeita à toxicidade dos congêneres, ela varia essencialmente em função do número e da localização dos átomos de cloro. Vários estudos demonstraram que os congêneres de PCDD/Fs que apresentam simultaneamente átomos de cloro nas posições 2, 3, 7 e 8 são os mais tóxicos [6,7,8]. Assim, dos 210 congêneres de PCDD/Fs existentes, 17 possuem esta disposição estrutural, respetivamente 7 de PCDDs e 10 de PCDFs. Verifica-se ainda, que de todos os congêneres o mais tóxico é o 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (ou simplesmente, 2,3,7,8-TCDD). Estudos realizados com cobaias, às quais foi administrada oralmente 2,3,7,8-TCDD, mostraram que a LD_{50} ⁹ é de apenas 0,6 µg/kg de massa corporal [6,7]

Na tabela 2.1, apresenta-se uma breve descrição das massas moleculares dos diferentes congêneres, bem como o número total de isómeros de cada uma das famílias.

⁹ A dose letal mediana (LD_{50}) é definida como concentração de uma substância química capaz de matar 50% da população da espécie de cobaia testada.

Tabela 2.1. – Número de isómeros, fórmula molecular e massa molecular dos PCDD/Fs. [9]

Massas de cada átomo em u: $^{12}\text{C} = 12,00000$, $^1\text{H} = 1,007825$, $^{35}\text{Cl} = 34,968853$ e $^{16}\text{O} = 15,994915$. Abundâncias relativas dos isótopos foram determinadas pelo método descrito em: Prest, Clerc e Simon, em que as abundâncias naturais dos diferentes isótopos são as seguintes: $^{12}\text{C} = 98,89\%$ e $^{13}\text{C} = 1,1\%$, $^1\text{H} = 99,985\%$ e $^2\text{H} = 0,015\%$, $^{35}\text{Cl} = 75,53\%$ e $^{37}\text{Cl} = 24,47\%$ e $^{16}\text{O} = 99,759\%$, $^{17}\text{O} = 0,037\%$ e $^{18}\text{O} = 0,204\%$.

CONGÉNERE	NÚMERO DE ISÓMEROS		FÓRMULA QUÍMICA DO CONGÉNERE		MASSA DA MOLÉCULA EM u ¹⁰ (ISÓTOPO ^{35}Cl)	
	PCDF	PCDD	PCDF	PCDD	PCDF	PCDD
Monoclorado	4	2	$\text{C}_{12}\text{H}_7\text{OCl}$	$\text{C}_{12}\text{H}_7\text{O}_2\text{Cl}$	202,0185	218,0135
Diclorado	16	10	$\text{C}_{12}\text{H}_6\text{OCl}_2$	$\text{C}_{12}\text{H}_6\text{O}_2\text{Cl}_2$	237,9766	253,9715
Triclorado	28	14	$\text{C}_{12}\text{H}_5\text{OCl}_3$	$\text{C}_{12}\text{H}_5\text{O}_2\text{Cl}_3$	271,9376	287,9326
Tetraclorado	38	22	$\text{C}_{12}\text{H}_4\text{OCl}_4$	$\text{C}_{12}\text{H}_4\text{O}_2\text{Cl}_4$	305,8987	321,8936
Pentaclorado	28	14	$\text{C}_{12}\text{H}_3\text{OCl}_5$	$\text{C}_{12}\text{H}_3\text{O}_2\text{Cl}_5$	339,8597	355,8546
Hexaclorado	16	10	$\text{C}_{12}\text{H}_2\text{OCl}_6$	$\text{C}_{12}\text{H}_2\text{O}_2\text{Cl}_6$	373,8207	389,8156
Heptaclorado	4	2	$\text{C}_{12}\text{HOCl}_7$	$\text{C}_{12}\text{HO}_2\text{Cl}_7$	449,7788	425,7737
Octaclorado	1	1	$\text{C}_{12}\text{OCl}_8$	$\text{C}_{12}\text{O}_2\text{Cl}_8$	443,7398	459,7348
TOTAL	135	75				

2.1.1.1. ORIGEM E PROVENIÊNCIA DOS PCDD/Fs

Relativamente aos congêneres de PCDD/Fs, verifica-se que estas substâncias são oriundas de processos de origem antropogénica ou não antropogénica (naturais). As fontes naturais compreendem os incêndios florestais, as erupções vulcânicas e algumas reações enzimáticas ou fotolíticas¹¹.

Relativamente à produção de origem antropogénica, convém salientar, que ao invés de outros poluentes orgânicos, os congêneres de PCDD/Fs não são produzidos pelo homem de forma intencional, ou seja, estas substâncias surgem como subprodutos ou produtos secundários indesejáveis em diversos processos industriais. Verifica-se que a sua produção intencional, apenas acontece por motivos científicos ou de investigação (por exemplo na preparação de padrões para análise laboratorial) e, consequentemente, a produção não-intencional é a principal responsável pela introdução e disseminação de PCDD/Fs nos diferentes sistemas ambientais.

De um modo geral, os principais processos de produção de PCDD/Fs podem ser agrupados em quatro categorias:

¹⁰ A unidade de massa atómica designada dalton (Da) ou u (*unified atomic mass unit*) corresponde a 1/12 da massa de um átomo de carbono-12, quando este se encontra em repouso e no seu estado fundamental (1 Da = 1 u = 1,660 538 86 (28) x 10⁻²⁷ kg). A unidade de massa atómica não é uma unidade do Sistema Internacional de Unidades, no entanto, pode ser obtida e determinada experimentalmente em unidades do Sistema Internacional. [10]

¹¹ Nestas reações estão incluídas reações de degradação de substâncias de estrutura semelhante, tais como, os PCBs, os PCDEs (éteres difenílicos policlororados) ou os PCNs (naftalenos policlororados).

1. Processos térmicos ou de combustão:

- a. Incineradoras e co-incineradoras de resíduos (urbanos, industriais e hospitalares);
- b. Crematórios e fogos florestais;
- c. Centrais térmicas que efetuem a combustão de combustíveis fósseis;
- d. Motores de combustão (automóveis e outros), sistemas de aquecimento doméstico que utilizem a combustão de matéria orgânica para gerar calor (por exemplo, lareiras e etc.) e outras combustões de matéria orgânica (por exemplo, cigarros, fogueiras e outros);
- e. Reciclagem de metais.

2. Processos industriais húmidos

- a. Fabricação de pesticidas, herbicidas e compostos organoclorados (pentaclorofenol, outros clorofenóis/clorobenzenos/PCBs, tais como, o Aroclor, o 2,4-D, o 2,4,5-T¹²);
- b. Produção e reciclagem de metais, nomeadamente em processos de fundição que utilizem sucatas como matéria-prima;
- c. Fabrico do vidro e de cerâmica;
- d. Branqueamento da pasta de papel com cloro;
- e. Produção eletroquímica de cloro através de elétrodos de grafite;
- f. Fabrico de retardantes de chama;
- g. Utilização de corantes e tratamento de fibras na indústria têxtil;
- h. Processos metalúrgicos e indústria petroquímica;
- i. Processos de tratamento de superfícies de metais com desengordurantes químicos;
- j. Processos de limpeza a seco com solventes orgânicos.

3. Acidentes

- a. Incêndios de plásticos, PVCs, material organoclorado ou de matéria orgânica (por exemplo, o desastre de 1976 na fábrica de produtos químicos *Industrie Chimie Meda Società*, em Seveso - Itália);
- b. Derrames ou incêndios em postos de transformação cujo fluido dielétrico esteja contaminado com PCBs (por exemplo, o incêndio de 1981 num posto de transformação de energia elétrica de Binghamton, em Nova Iorque - EUA).

4. Produção de resíduos

- a. Lamas de estações de tratamento de águas residuais contaminadas;
- b. Cinzas de centrais de incineração contaminadas;
- c. Lixiviados industriais contaminados;
- d. Águas residuais industriais e domésticas contaminadas.

¹² Os compostos 2,4-D (ou ácido (2,4-diclorofenoxi)acético) e o 2,4,5-T (ou ácido 2,4,5-(triclorofenoxi)acético) pertencem à família dos herbicidas, enquanto que o nome Aroclor era normalmente utilizado para denominar diversas misturas de PCBs produzidas pela empresa *Monsanto Company, USA*.

Existem outras fontes possíveis para a produção destas substâncias. Sabendo-se que os congêneres de PCDD/Fs são moléculas organocloradas aromáticas e policíclicas (constituídas por carbono, hidrogénio, cloro e oxigénio), depreende-se que é necessário a presença destes elementos para que a sua produção seja possível. Deste modo, sendo a matéria orgânica composta essencialmente por átomos de carbono e hidrogénio, e estando o oxigénio disponível na atmosfera, verifica-se que apenas é necessário uma fonte de cloro (ainda que vestigial), para tornar viável a produção de PCDD/Fs.

Ainda relativamente aos processos de produção de PCDD/Fs, verifica-se que dos processos industriais, os que têm por base a combustão são muito importantes, pelo que serão abordados nos pontos que se seguem.

2.1.1.2. A SÍNTESE DE PCDD/Fs – REFERÊNCIA HISTÓRICA

A primeira síntese documentada de congêneres de PCDD/Fs foi efetuada em 1872, por dois químicos alemães (Merz e Weith), a partir da decomposição térmica do sal pentaclorofenolato de potássio (KOC_6Cl_5). Inicialmente, os dois autores, denominaram a substância obtida por *Perchlorophenylenoxyd*, a qual é sabido desde 1960, tratar-se da 1,2,3,4,6,7,8,9-octaclorodibenzo-*p*-dioxina (OCDD) [11,12]. Na figura 2.5, apresenta-se um dos possíveis mecanismos de formação do congénere OCDD a partir da decomposição térmica do pentaclorofenolato de potássio.

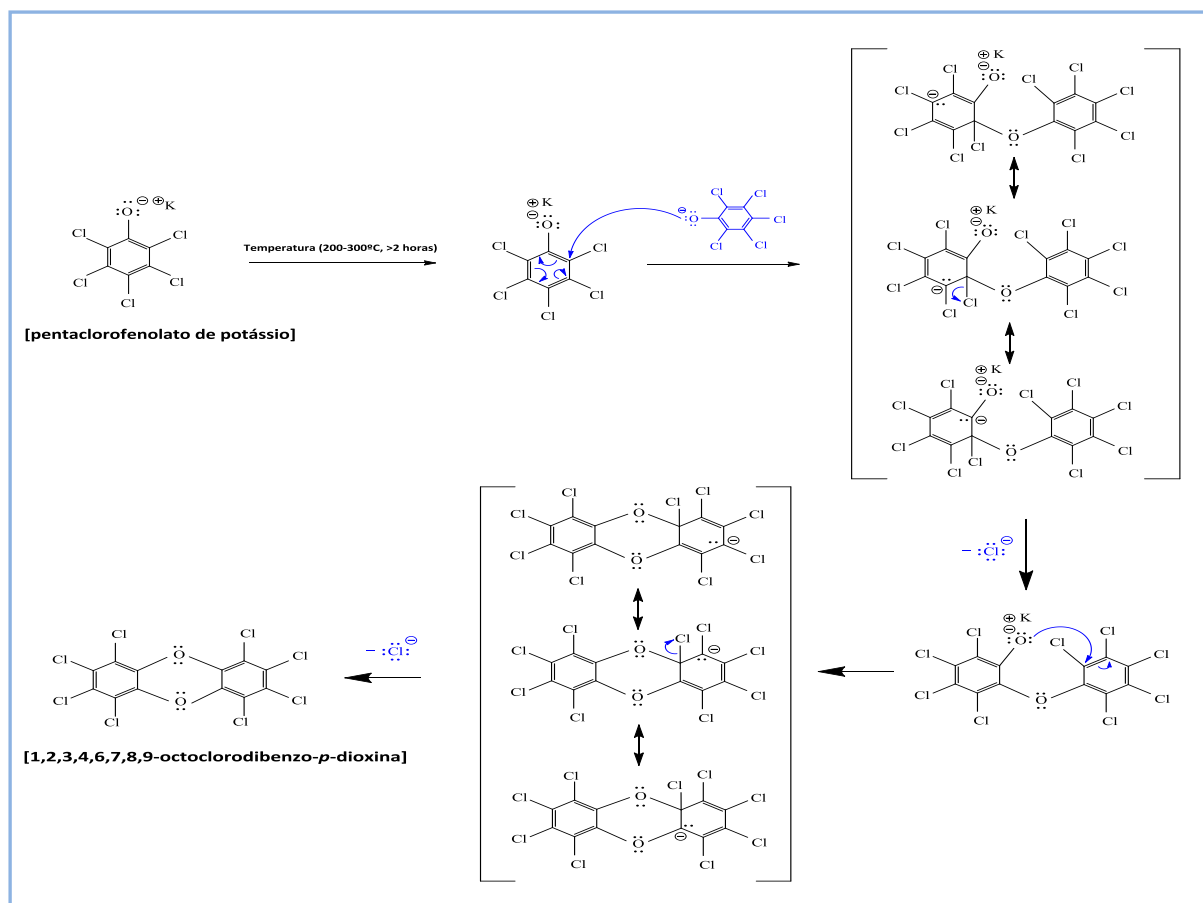


Figura 2.5. – Mecanismo de formação de 1,2,3,4,6,7,8,9-octaclorodibenzo-*p*-dioxina (OCDD) por decomposição térmica de pentaclorofenolato de potássio. [11]

O mecanismo apresentado na figura 2.5 envolve um ataque nucleófilico do ião fenenolato a uma segunda entidade. Segue-se a expulsão do ião cloreto, o que conduz à formação do ião diaromático precursor designado por pré-dioxina. Posteriormente ocorre a substituição nucleófila intermolecular do cloro, o que origina a formação da estrutura final, isto é, a molécula de OCDD. Saliente-se, que partindo de clorofenolatos com diferentes substituições de cloro é possível obter outros congêneres de PCDDs.

Outra das vias possíveis de obtenção de congêneres de PCDD/Fs baseia-se no processo estudado por Zinke (1894) e Blitz (1904). Estes autores, demonstraram a possibilidade de sintetizar OCDD, a partir da decomposição térmica da 2,3,4,4,5,6,6-heptaclorociclo-hex-2-en-1-ona. Na figura 2.6 apresenta-se o mecanismo [11,12].

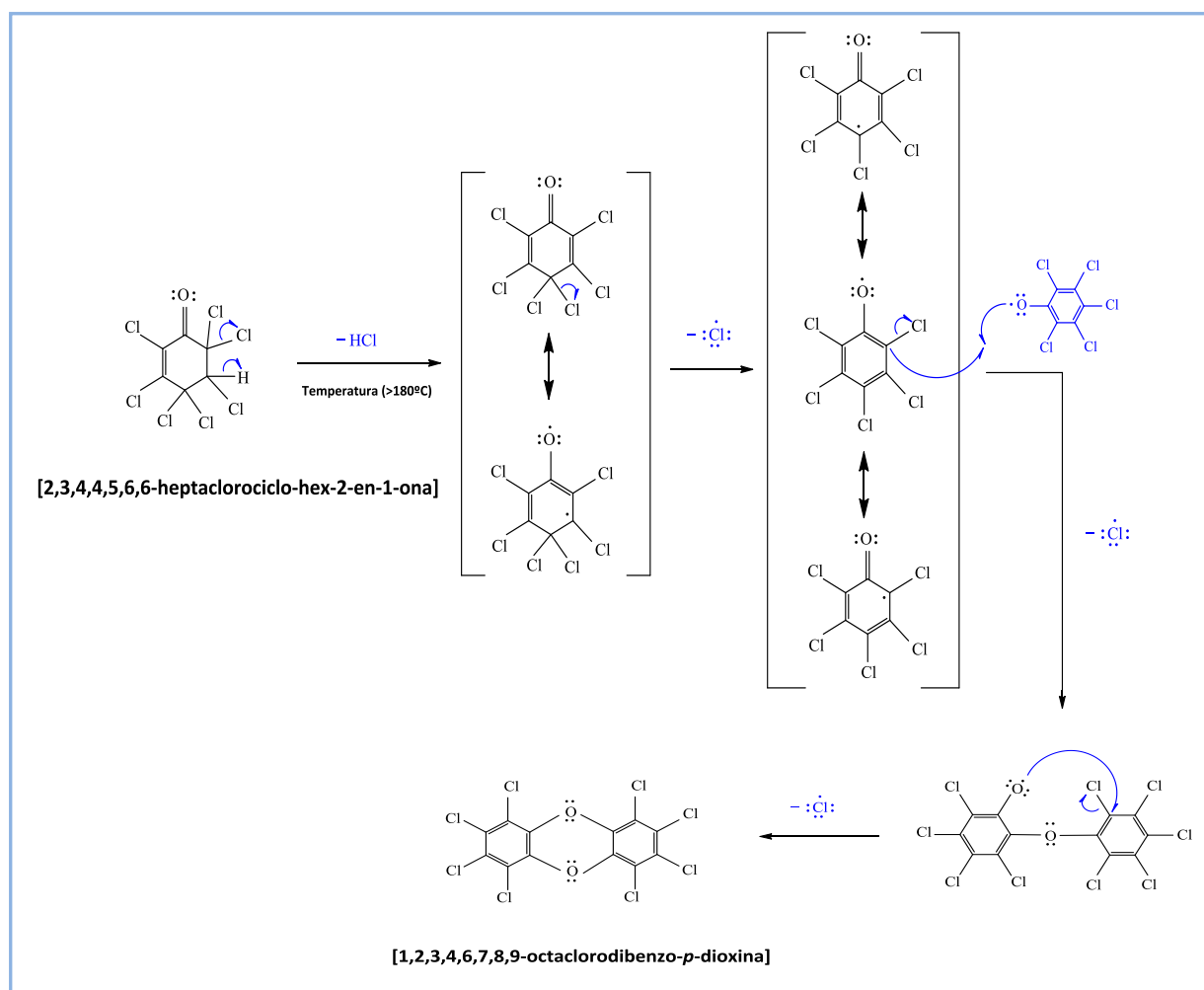


Figura 2.6. – Mecanismo de formação de OCDD a partir da decomposição térmica de 2,3,4,4,5,6,6-heptaclorociclo-hex-2-en-1-ona. [11,12]

A literatura mostra, que a partir de 1930 existem inúmeros trabalhos relativos à produção intencional de dioxinas. Em 1941, foi sintetizada a 2,8-diclorodibenzo-*p*-dioxina (2,8-DiCDD) e posteriormente, em 1957, foi sintetizado o congénere 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (vulgarmente conhecido por 2,3,7,8-TCDD) [13]. Neste âmbito, salienta-se também, que os trabalhos

de Gilman, Pohland e Yang foram muito importantes no sentido em que contribuíram para a síntese de outros congêneres [13,14]. Na tabela 2.2 apresenta uma compilação cronológica acerca da síntese destes compostos.

Tabela 2.2. – Cronologia evolutiva da síntese de PCDD/Fs. [14]

CONGÉNERE	MÉTODO DE SÍNTESE	ANO DA SÍNTESE	AUTORES
1-MonoCDD	Reação do Catecol ¹³ com clorobenzeno	1972	Pohland e Yang
2-MonoCDD		1972	Pohland e Yang
1,3-DiCDD		1974	Kende et al.
2,3-DiCDD		1972	Pohland e Yang
2,7-DiCDD	Pirólise ¹⁴ de clorofenóis	1972	Pohland e Yang
1,2,4-TricDD	Reação do Catecol com cloronitrobenzenos	1972	Pohland e Yang
2,3,7-TricDD	Reação do Catecol com clorobenzeno	1974	Kende et al.
2,3,7,8-TCCD	Pirólise de clorofenóis	1972	Pohland e Yang
2,3,7,8-TCDD	Reação de cloração de clorodibenzo- <i>p</i> -dioxinas	1974	Kende et al.
1,2,3,4-TCDD	Reação do Catecol com cloronitrobenzenos	1972	Pohland e Yang
1,3,7,8-TCDD	Reação do Catecol com o clorobenzeno	1974	Kende et al.
1,3,6,8-TCDD	Pirólise de clorofenóis	1972	Pohland e Yang
1,2,3,4,7-PeCDD	Reação de cloração de clorodibenzo- <i>p</i> -dioxinas	1974	Kende et al.
1,2,3,4,7,8-HxCDD		1972	Pohland e Yang
1,2,4,6,7,9-HxCDD	Pirólise de clorofenóis	1972	Pohland e Yang
OCDD		1972	Pohland e Yang

Ao nível da síntese orgânica à escala industrial, a primeira produção dos congêneres de PCDD/Fs, foi provavelmente através do processo Leblanc. O processo Leblanc (cujo nome deriva do químico francês que o desenvolveu em 1791, Nicolas Leblanc) foi utilizado no século XIX para a produção de carbonato de sódio, a partir do cloreto de sódio, ácido sulfúrico, calcário e carvão. Na figura 2.7, apresenta-se de um modo genérico, a reação envolvida na primeira etapa do referido processo [15].

¹³ Também designado por Benzeno-1,2-diol é um composto vulgarmente utilizado na produção de pesticidas, perfumes, fragâncias e produtos farmacêuticos.

¹⁴ Pirólise, termólise ou decomposição térmica – processo de decomposição de uma substância por intermédio de aquecimento (do Grego *pyrós* que significa fogo e *lysis* que significa dissolução).

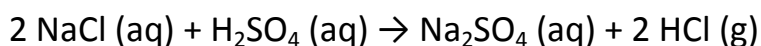


Figura 2.7. – Reação correspondente ao 1º passo do processo Leblanc. [15]

O 2º passo do processo envolve a reação do sulfato de sódio com o carbonato de cálcio, na presença de carbono. Na figura 2.8, apresenta-se a referida reação.



Figura 2.8. – Reação correspondente ao 2º Passo do processo Leblanc. [15]

A reação do sulfato de sódio com carbonato de cálcio envolve como combustível a queima de carvão (coque). Como produtos da reação, obtém-se o sulfureto de cálcio, o carbonato de sódio e dióxido de carbono. A separação do sulfureto de cálcio do carbonato de sódio envolve uma lavagem com água, seguida de evaporação, uma vez, que o sulfureto de cálcio é pouco solúvel em água e o carbonato de sódio não. Com o tempo este processo caiu em desuso tendo sido substituído pelo Processo Solvay, que é menos poluente e mais barato. Como é facilmente perceptível, a presença de cloro (via HCl do primeiro passo), de carbono ou matéria orgânica carbonada e a ação da combustão, constituem fatores, que tornam possível a formação de congêneres de PCDD/Fs durante o processo.

Assim, por forma a clarificar melhor os mecanismos de formação de congêneres de PCDD/Fs, este tema será aprofundado nos pontos seguintes.

2.1.1.3. FORMAÇÃO DE PCDD/Fs EM PROCESSOS TÉRMICOS

Os processos térmicos (ou de combustão) são uma das principais fontes de produção de congêneres de PCDD/Fs. Poucas substâncias orgânicas são capazes de sobreviver ao contacto direto com uma chama, regra geral, a maioria dos compostos orgânicos decompõe-se¹⁵ a temperaturas entre os 500 e 600 °C. Existem contudo alguns compostos orgânicos, tais como os congêneres de PCDD/Fs e PCBs que requerem temperaturas superiores a 800°C para que as suas moléculas sejam efetivamente “destruídas”. Por este motivo, é comumente aceite, que a maior parte das substâncias emitidas por uma fonte fixa em processos de combustão, são normalmente formadas fora do contacto direto com a chama. Em 1998, Dellinger e Taylor, propuseram o “Modelo de Zona” (do Inglês *Zone Model*) para os processos de combustão, por forma a permitir classificar os tipos de reação que ocorrem [16,17,18]. A tabela 2.3 apresenta uma súmula das principais características de cada zona no referido modelo.

¹⁵ Decomposição neste caso refere-se à dissociação de ligações ou a quebra de ligações moleculares, obtendo-se portanto outras moléculas diferentes da original.

Tabela 2.3. – Características do “Modelo de Zona” proposto por Dellinger e Taylor (1998) para os processos de combustão. [16,17]

TIPO DE ZONA	CONDIÇÕES DE REAÇÃO
1 - Zona de pré-chama	Temperatura de 200 a 1000 °C Tempo de permanência <<< 1 seg. Concentração de oxigénio [O ₂] = 50% do ar
2 - Zona de chama	Temperatura de 1000 a 1800°C Tempo de permanência <<<0,01 seg. Concentração de oxigénio [O ₂] = 50% do ar
3 - Zona da química rica	Temperatura de 600 a 1100 °C Tempo de permanência de 1 a 10 seg. Concentração de oxigénio [O ₂] de 50 a 100% do ar
4 - Zona de extinção	Temperatura de 80 a 600 °C Tempo de permanência = 10 seg. Concentração de oxigénio [O ₂] de 3 a 9% do ar
5 - Zona de superfície de catálise	Temperatura de 200 a 600 °C Tempo de permanência de 10 seg. a 10 min. Concentração de oxigénio [O ₂] de 3 a 9% do ar

Este modelo assume que em cada zona os mecanismos de formação e destruição são relativamente consistentes.

Zona 1 – zona de pré-chama (*pré-flame zone*) – é caracterizada por ter uma ampla gama de temperaturas, períodos curtos de permanência e baixas concentração de ar. Esta zona 1 não é considerada diretamente responsável pela maior fração das emissões produzidas, sendo tida como uma zona, onde são criadas novas substâncias que irão reagir nas zonas seguintes;

Zona 2 – zona de chama (*flame zone*) – é caracterizada por ter temperaturas elevadas, com as quais a maioria dos compostos orgânicos presentes, é convertida em substâncias termodinamicamente mais estáveis, tais como, dióxido de carbono (CO₂), vapor de água (H₂O), óxidos de azoto (NO_x), ácido clorídrico (HCl) e outras. Embora esta zona não gere precursores orgânicos ou poluentes significativos, ela é contudo responsável, pela criação de algumas substâncias que poderão ser reagentes importantes em zonas subsequentes. Outra característica importante desta zona é a sua baixa razão combustível/ar. Este baixo valor de razão impede a criação de uma chama muito quente, o que condiciona a combustão completa das moléculas orgânicas;

Zona 3 – zona da química rica (*chemistry-rich zone*) – é igualmente caracterizada por ter elevadas temperaturas (entre 600 e 1100°C), e nela ocorrem muitos tipos de reações unimoleculares e bimoleculares envolvendo radicais/moléculas. Os tempos de permanência das substâncias podem alcançar períodos de alguns segundos em regiões ricas e deficientes em oxigénio. Evidências experimentais sugerem que é nesta zona, sobretudo nas regiões deficientes em oxigénio ou com baixas razões de resíduos/ar, que se formam a maioria dos poluentes (PAHs, PNAs, e outros);

Zona 4 – zona de extinção (*quench zone*) – é caracterizada pela diminuição gradual da temperatura do gás. Nesta zona, os tempos de permanência podem alcançar os 10 segundos e a presença de regiões ricas e deficientes em oxigénio é bastante variável. Embora ainda não haja muitos estudos detalhados, existem várias evidências, que indicam que é nesta zona que se forma a maior fração dos subprodutos da combustão presentes no efluente gasoso.

Zona 5 – zona de superfície de catálise (*surface-catalysis zone*) – é caracterizada pela ação do efeito de superfície. Os tempos de permanência nesta zona podem alcançar os 10 segundos para as partículas arrastadas, ou horas para o caso das partículas depositadas que tenham sido arrastadas. Relativamente à temperatura, abaixo dos 200°C, não existe energia suficiente para a ativação ou adsorção química, enquanto que quando as temperaturas excedem os 600°C, a maioria dos reagentes é destruída. É precisamente nesta zona que se formam algumas das substâncias mais preocupantes, tais como, os congéneres de PCDD/Fs (via processo *de novo*), os cloroalcanos mais complexos, os álcoois, os ácidos orgânicos, os epóxidos, diversos produtos azotados e outros poluentes orgânicos. Salienta-se ainda, que a maioria das reações que produzem as referidas substâncias necessita da presença de um catalisador e de um sítio/superfície de adsorção. Neste âmbito, verifica-se que os metais de transição funcionam muito bem como catalisadores, enquanto que as partículas de cinza, adequam-se perfeitamente à função de sítio de adsorção.

2.1.1.3.1. MECANISMOS DE FORMAÇÃO DE PCDD/Fs EM PROCESSOS TÉRMICOS

Os mecanismos de formação de PCDD/Fs em processos térmicos têm sido muito estudados mostrando que existe mais do que uma via para a formação destas substâncias. Contudo, existe ainda um certo grau de incerteza acerca desses mecanismos, bem como as condições nas quais os compostos são efetivamente formados. Não obstante, sabe-se que existem pelo menos dois mecanismos principais para a formação de congéneres de PCDD/Fs.

Em 2001 Gullet et al. [6,16], propuseram dois mecanismos para a formação dos congéneres de PCDD/Fs nos processos de combustão, designadamente:

1. Mecanismo de reações térmicas entre os precursores clorados, semelhantes ou relacionados com os congéneres de PCDD/Fs, tais como, os PCBs, os clorofenóis, os clorobenzenos, os PCDEs, entre outros. Neste tipo de mecanismo, verifica-se que durante o processo de combustão, os hidrocarbonetos clorados adsorvidos na superfície de partículas de cinza, sofrem reações de condensação que são promovidas pela presença de um catalisador metálico, tal como o cobre ou ferro, e originam a formação de moléculas de PCDD/Fs [19, 20];
2. Mecanismo de síntese *de novo*. Neste mecanismo os congéneres de PCDD/Fs são formados pela combustão de estruturas orgânicas substancialmente diferentes e não relacionadas com as moléculas de PCDD/Fs. Neste âmbito, existem portanto duas possibilidades; a primeira consiste na combustão de compostos orgânicos clorados (por exemplo, o PVC, o tetracloreto de carbono ou outros cloroalcanos) e a segunda na combustão de compostos orgânicos não clorados (tais como, o poliestireno, a celulose, a lignina, o carvão, o petróleo, o tabaco ou partículas de carbono). Salienta-se também, que para a segunda possibilidade ser viável

torna-se necessária a presença de um dador de cloro, tal como, o ácido clorídrico ou o cloro molecular [17 e 18];

1 – Reações térmicas entre os precursores clorados

Neste tipo de mecanismo, a formação de PCDD/Fs pode ocorrer, essencialmente através das seguintes possibilidades:

- a) Por ação de reações com precursores aromáticos monocíclicos (clorofenóis e clorobenzenos);
- b) Por ação de reações com precursores aromáticos policíclicos (PCDEs, PCBs, entre outros).

Sabe-se que a formação de PCDD/Fs por intermédio de reações térmicas com precursores clorados ocorre no intervalo de temperatura entre os 400 e os 800°C, envolvendo processos tais como as reações de condensação, ciclização e cloração dos precursores iniciais. Assim, verifica-se que a condensação das moléculas dos precursores promove a criação de pares de espécies reativas do género molécula-molécula, molécula-radical ou radical-radical, que facilitam a formação de novos anéis moleculares (ciclização) [20,21,22]. Estas novas estruturas anelares são essenciais para a formação dos congêneres de PCDD/Fs, sendo que pode também suceder uma última etapa, designadamente a cloração/descloração das estruturas recém-formadas. Verifica-se portanto que a presença de cloro no meio reacional, constitui também, um fator importante que deve ser considerado nos mecanismos de formação. Mais adiante serão abordados os principais aspetos que intervêm na formação dos congêneres de PCDD/Fs, no entanto, esclarece-se que a temperatura, o oxigénio, a presença de espécies cloradas e os catalisadores metálicos desempenham todos um papel crítico no processo.

Diversos estudos têm demonstrado que os clorofenóis e os clorobenzenos são os precursores mais importantes para a formação de PCDD/Fs, existindo inúmeras evidências sobre o papel central que desempenham nos respetivos mecanismos de formação. Por outro lado, verifica-se que os referidos precursores, atuam formando os radicais reativos clorofenilos e clorofenoxilos, tal como se apresenta na figura 2.9 [19,22,23].

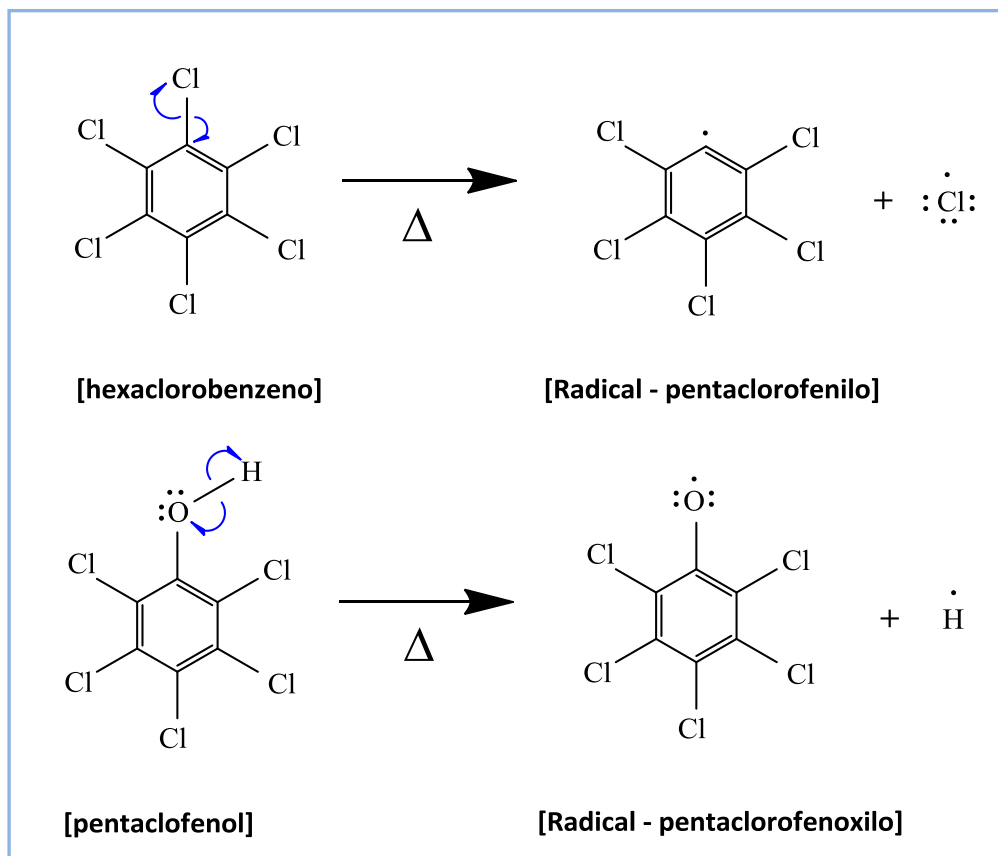


Figura 2.9 – Formação dos radicais pentaclorofenilo e pentaclorofenoxilo por decomposição térmica de hexaclorobenzeno e pentaclorofenol, respetivamente. [20,21,22]

Os radicais clorofenilo e clorofenoxilo são extremamente reativos. Não obstante o seu elevado grau de reatividade, estudos desenvolvidos por Lovell et al. (2008) e Ritter et al. (1990), mostraram que a cisão unimolecular do átomo de hidrogénio nos clorofenóis é um processo mais fácil, do que a decomposição unimolecular do cloro nos clorobenzenos (respetivamente, $k_{\text{fenol}} = 2,67 \times 10^{16} \exp(-44700 \text{ K/T}) \text{ s}^{-1}$ a 1070-1150 K para a decomposição unimolecular da ligação O-H na molécula de fenol e $k_{\text{clorobenzeno}} = 3,0 \times 10^{15} \exp(-48100 \text{ K/T}) \text{ s}^{-1}$ a 1070-1280 K para a ligação C-Cl do clorobenzeno) [20]. Existem alguns aspetos que podem explicar este comportamento, o primeiro consiste no facto da ligação O-H da molécula de clorofenol ser mais fraca, do que a ligação C-Cl do clorobenzeno, tal como se pode verificar pela análise da tabela 2.4.

Tabela 2.4. – Energia de dissociação das ligações C-Cl e O-H nas moléculas de clorobenzenos e clorofenóis. [20,24].

^{a)} Valores obtidos à temperatura de 298,15 K.

CLOROBENZENOS	N.º DE ÁTOMOS DE CLORO	MOLÉCULA	ENERGIA DE DISSOCIAÇÃO DA LIGAÇÃO C-Cl ^{a)} (DISSOCIAÇÃO PRIMEIRO CLORO) (kcal/mol)
	1	C ₆ H ₅ Cl	95,5
	2	<i>o</i> -C ₆ H ₄ Cl ₂	92,2
		<i>m</i> -C ₆ H ₄ Cl ₂	89,9
		<i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl ₂	93,7
	3	1,3,5-C ₆ H ₃ Cl ₃	94,5
CLOROFENÓIS	N.º DE ÁTOMOS DE CLORO	MOLÉCULA	ENERGIA DE DISSOCIAÇÃO DA LIGAÇÃO O-H ^{a)} (kcal/mol)
	1	<i>o</i> -ClC ₆ H ₄ OH	90,0
		<i>m</i> -ClC ₆ H ₄ OH	91,8
		<i>p</i> -ClC ₆ H ₄ OH	93,4
	2	3,5-Cl ₂ C ₆ H ₃ OH	93,9
	3	3,4,5-Cl ₃ C ₆ H ₂ OH	93,1

Adicionalmente, e em segundo lugar, verifica-se também que o radical clorofenoxilo é estabilizado por ressonância, enquanto que o fenilo não. Na figura 2.10 apresentam-se as quatro estruturas de ressonância do radical clorofenoxilo.

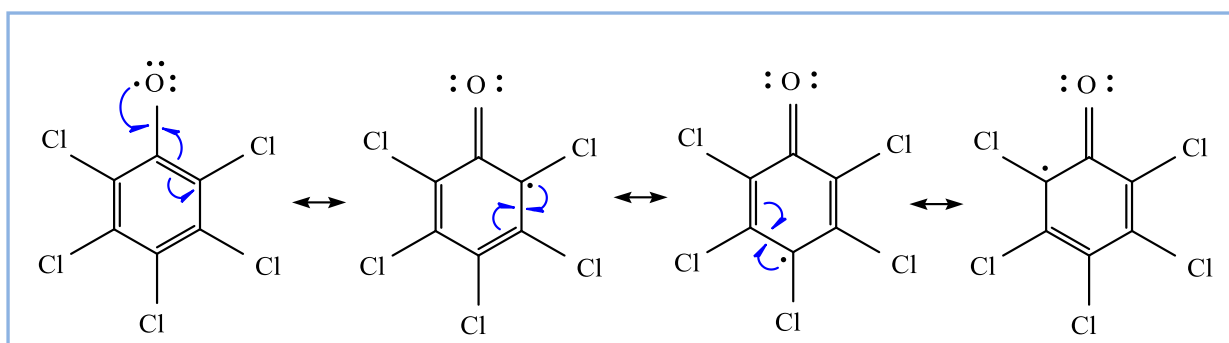


Figura 2.10. – Estruturas de ressonância do radical pentaclorofenoxilo.

Assim, a formação de radicais de clorofenoxilo a partir de clorofenol pode realizar-se mediante diversos mecanismos de reação. Na figura 2.11, apresentam-se alguns exemplos.

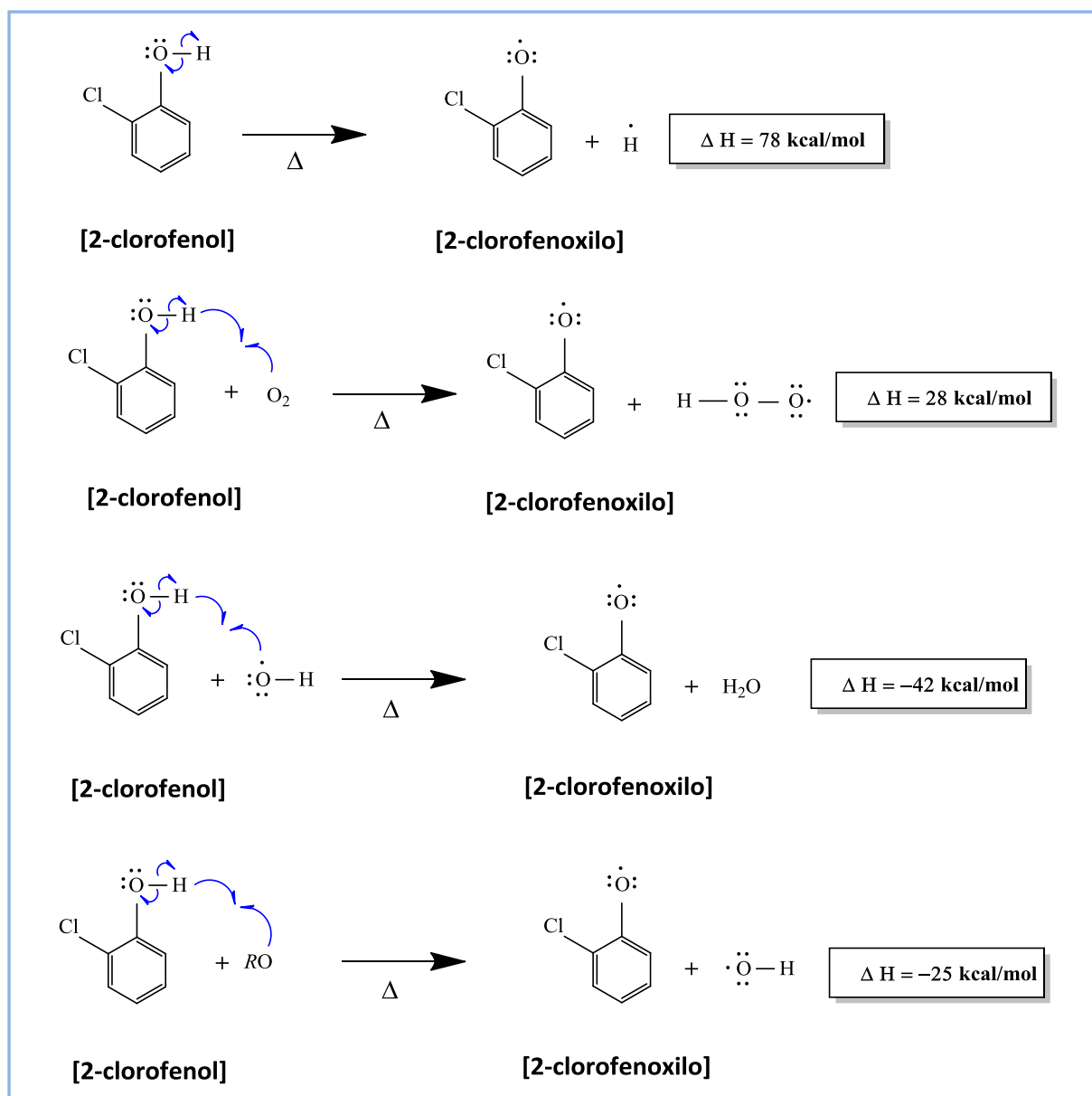


Figura 2.11. – Formação do radical 2-clorofenoxilo por decomposição térmica de 2-clorofenol. [22]

Nesta figura, o termo RO refere-se ao radical oxigénio.

A observação da figura 2.11, mostra que a decomposição térmica do 2-clorofenol, ocorre sobretudo, através da abstração de hidrogénio do grupo hidroxilo (a energia da ligação C-OH no fenol é de 111,3 kcal/mol, enquanto que a da ligação O-H na mesma molécula, é de apenas 89,5 kcal/mol) [24]. Verifica-se também, que na presença dos radicais RO e $\cdot\text{OH}$, o 2-clorofenol decompõe-se de forma exotérmica, pelo que, não é necessária elevada energia de ativação para o início da reação. Por último, convém salientar, que os mecanismos apresentados para a decomposição térmica do 2-clorofenol, são igualmente possíveis para os restantes congéneres de clorofenóis.

Relativamente aos clorobenzenos, diversos estudos mostram que a formação de PCDD/Fs a partir da sua decomposição térmica, ocorre especialmente, através da clivagem homolítica dos átomos de cloro, conduzindo à criação do radical clorofenilo. A quebra da ligação C-Cl é a principal via de

formação do radical clorofenilo, uma vez, que esta corresponde à ligação mais fraca da molécula de clorobenzeno (a energia da ligação C-H do benzeno é de 112,3 kcal/mol e a do C-Cl do clorobenzeno é de 95,5 kcal/mol) [24].

Contudo, para que se formem congéneres de PCDD/Fs a partir de clorobenzenos, é necessário após a formação do radical clorofenilo, que este reaja com outra molécula de clorobenzeno, produzindo a formação de um PCB. Após a criação desta entidade bianelar, a sua reação com o oxigénio seguida da perda de cloro e/ou hidrogénio, origina a formação de congéneres de PCDFs. Paralelamente existe também a possibilidade do radical clorofenilo reagir diretamente com o oxigénio e, subsequentemente, originar a formação da entidade bianelar PCB. Tal como no caso anterior, esta alternativa reacional termina de um modo semelhante, ou seja, com a formação de congéneres de PCDFs. Na figura 2.12 apresentam-se os respetivos mecanismos.

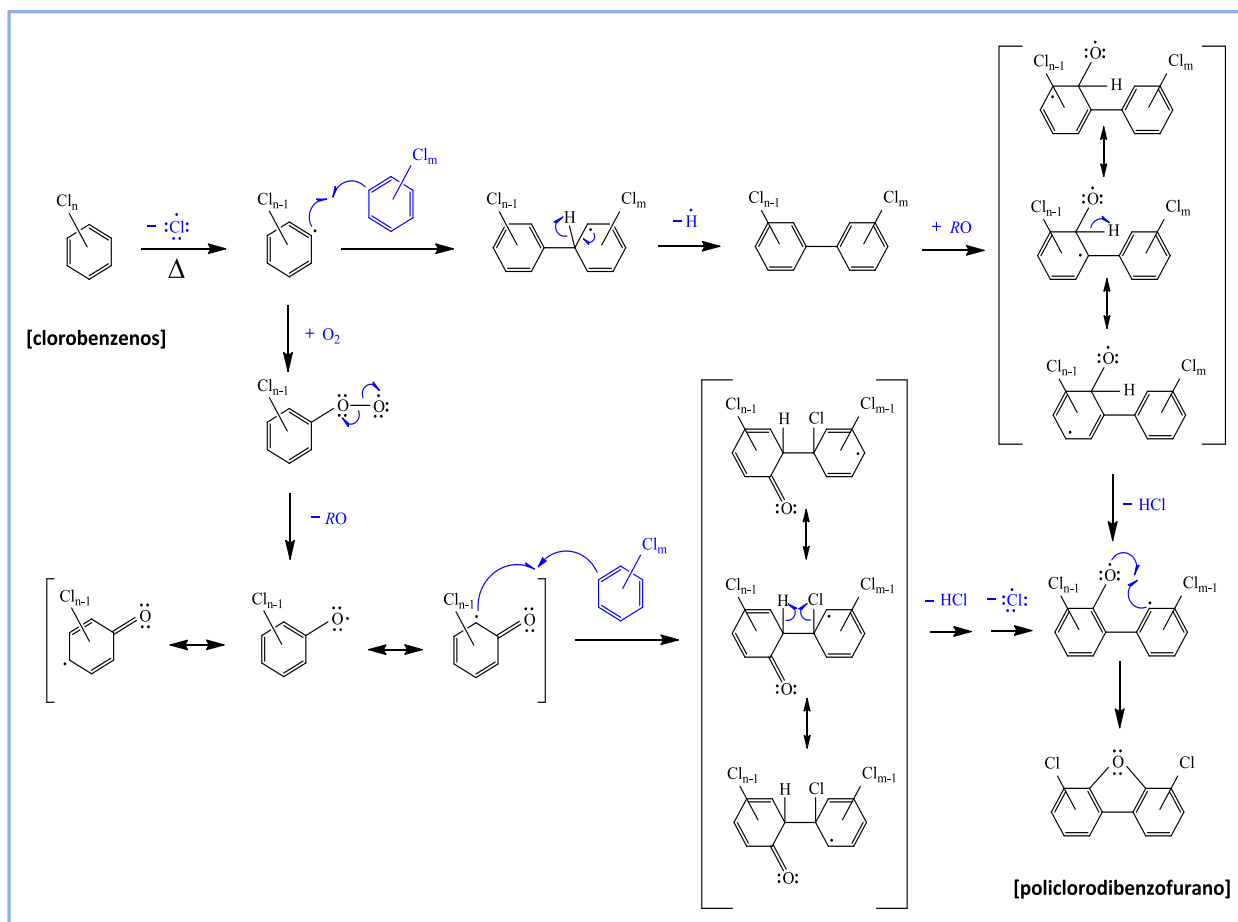


Figura 2.12. – Mecanismos de formação de policlorodibenzofuranos por decomposição térmica de clorobenzenos. [21,23]

Nesta figura, o termo *RO* refere-se ao radical oxigénio.

Na figura 2.13 apresenta-se um mecanismo alternativo para a formação de congéneres de PCDFs, a partir da decomposição térmica de clorobenzenos.

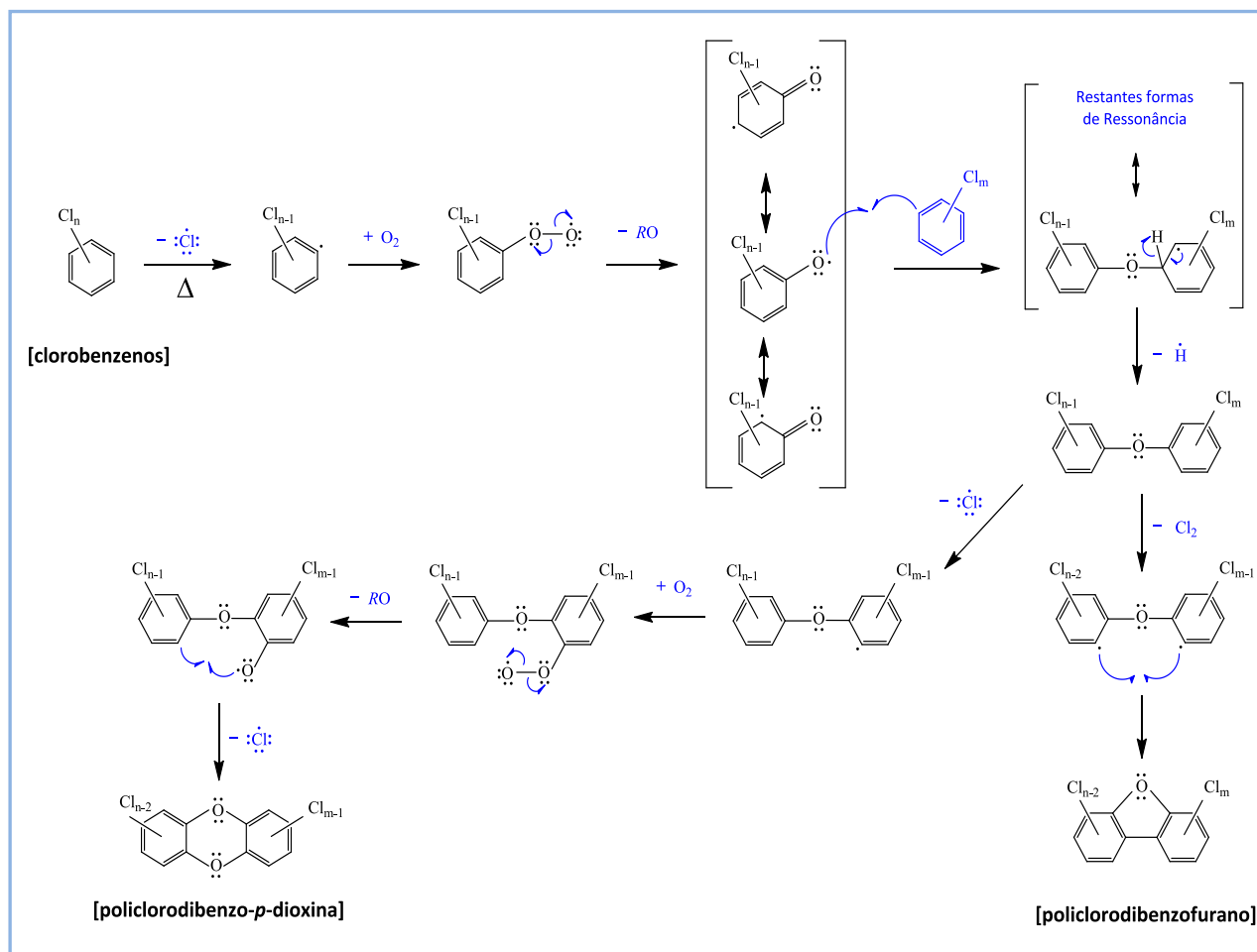


Figura 2.13. – Mecanismos de formação de policlorodibenzofuranos e policlorodibenzo-*p*-dioxinas por decomposição térmica de clorobenzenos. [21,22]

Nesta figura, o termo *RO* refere-se ao radical oxigénio.

Assim, a análise das anteriores figuras 2.12 e 2.13, permite verificar que na formação de congéneres de PCDFs existem dois intermediários nos mecanismos (nomeadamente, os PCBs e os PCDEs). Por outro lado, no mecanismo de formação de PCDDs apenas existe um (designadamente, os PCDEs) [21]. Deste modo, atendendo aos referidos mecanismos, torna-se mais simples compreender porque motivo a decomposição térmica de clorobenzenos, produz uma maior quantidade de congéneres de PCDFs do que de PCDDs (razão PCDFs/PCDDs > 1).

Relativamente à formação de congéneres de PCDD/Fs, partindo dos clorofenóis como precursor inicial, verifica-se que também existem diferentes vias de possibilidade. Nas figuras 2.14 e 2.15 apresentam três dos possíveis mecanismos.

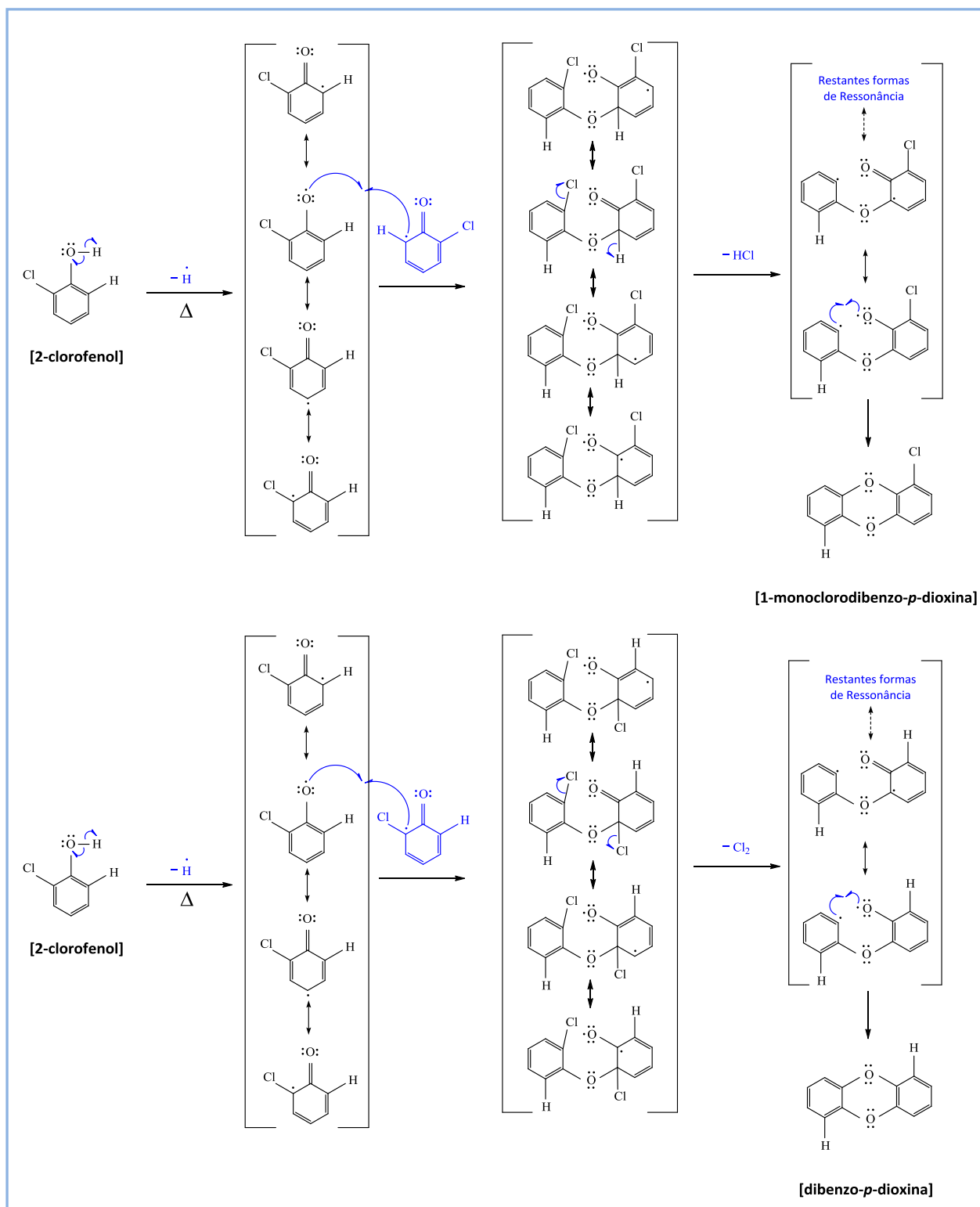


Figura 2.14. – Mecanismos de formação de 1-monoclorodibenzo-*p*-dioxina ou dibenzo-*p*-dioxina por decomposição térmica do 2-clorofenol. [20,22,25]

Tal como já foi referido, o mecanismo ocorre através da formação do radical clorofenoxilo. Posteriormente, este radical reage e obtém-se uma entidade bianelar. Finalmente, e mediante a

clivagem homolítica de hidrogénio e/ou cloro, formam-se os congéneres de PCDDs (neste caso, a 1-monoclorodibenzo-*p*-dioxina ou a dibenzo-*p*-dioxina).

Conforme apresentado na figura 2.15, e de forma análoga, formam-se os congéneres de PCDFs (neste caso, o 4,6-diclorodibenzofurano)

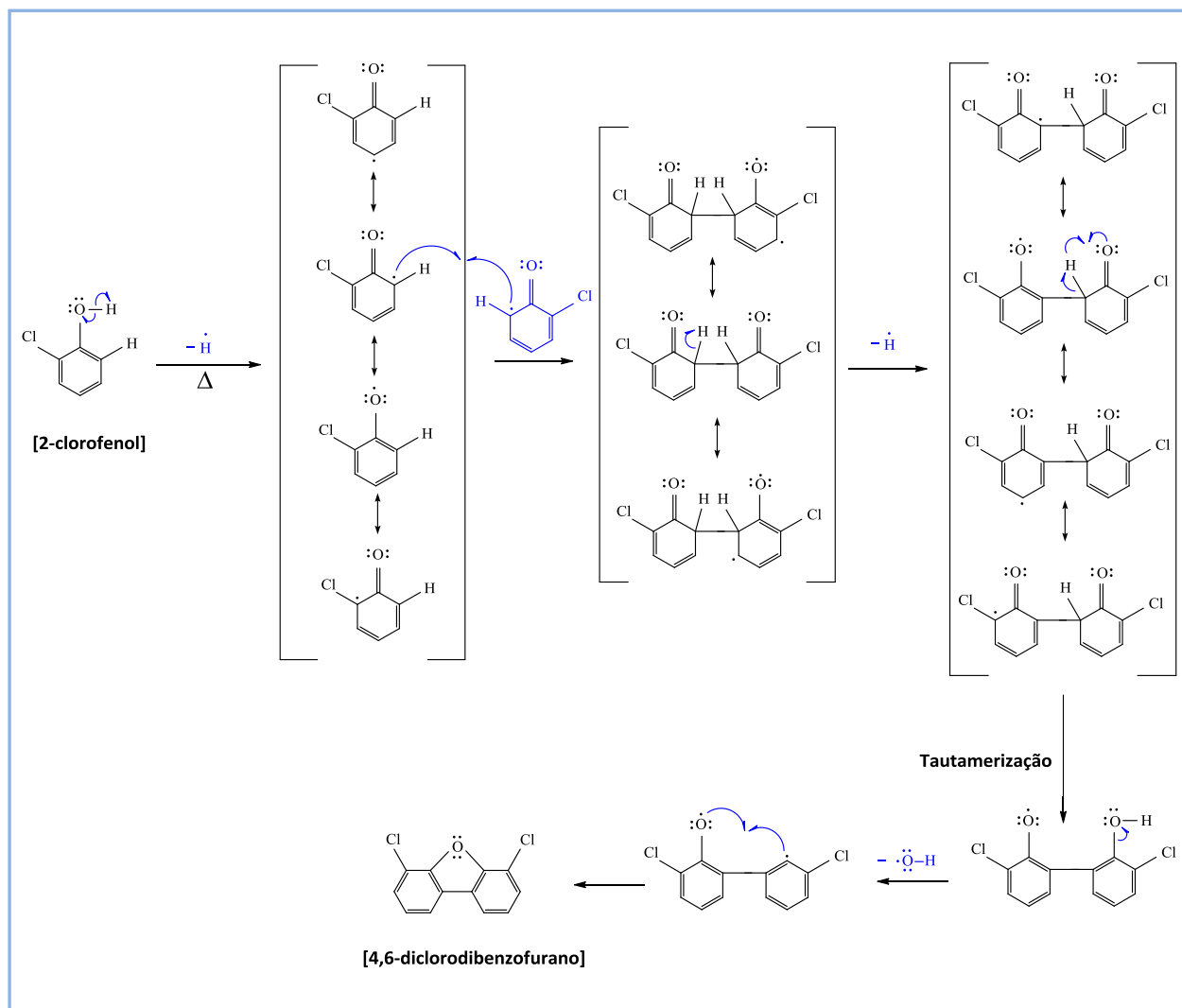


Figura 2.15. – Mecanismos de formação de 4,6-diclorodibenzofurano por decomposição térmica do 2-clorofenol. [20,22,25]

Contudo, a formação de PCDD/Fs pode também decorrer de reações com precursores policíclicos. Neste caso, os mecanismos são em tudo semelhantes aos já ilustrados, uma vez, que se centralizam na produção dos radicais clorofenilo e clorofenoxilo. Nas figuras 2.16 e 2.17 apresentam-se dois desses mecanismos, respetivamente a formação de congéneres de PCDD/Fs a partir de PCBs e PCDEs.

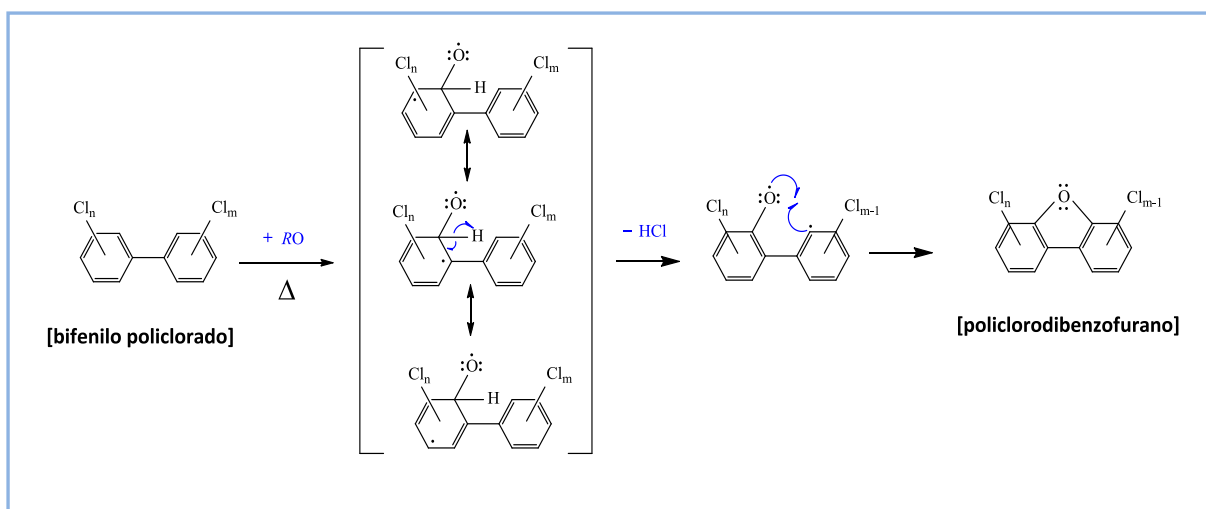


Figura 2.16. – Mecanismos de formação de policlorodibenzofuranos por decomposição térmica de PCBs.[21]

Nesta figura, o termo RO refere-se ao radical oxigénio.

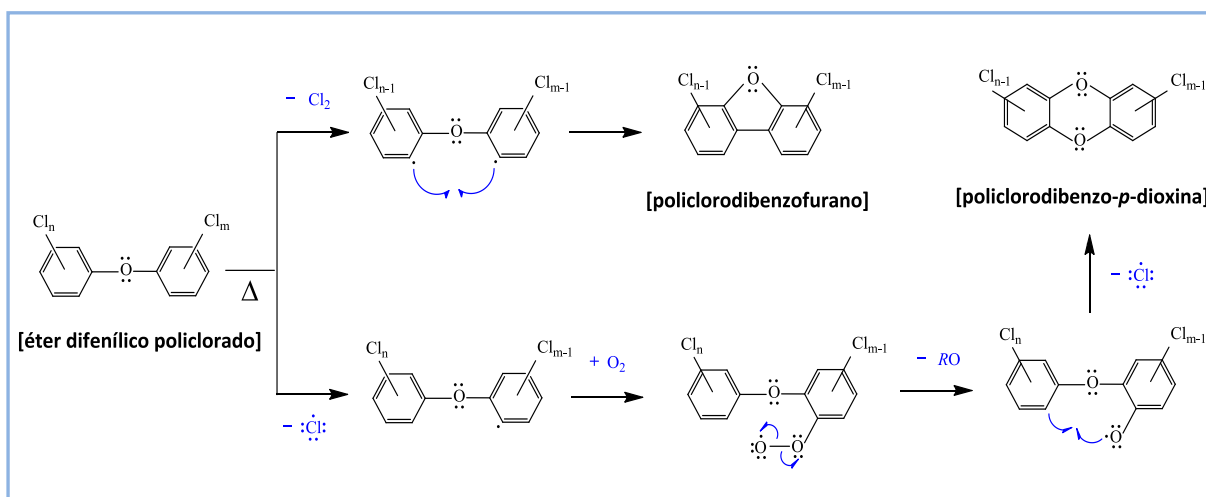


Figura 2.17. – Mecanismos de formação de policlorodibenzo-*p*-dioxinas por decomposição térmica de PCDEs. [21]

Nesta figura, o termo RO refere-se ao radical oxigénio.

2 – Síntese *de novo*

Tal como descrito anteriormente, neste tipo de mecanismos, os congêneres de PCDD/Fs são formados pela combustão de estruturas orgânicas substancialmente diferentes e não relacionadas com as moléculas de PCDD/Fs (por exemplo, o PVC, o tetracloreto de carbono, o poliestireno, a celulose, a lignina, o carvão, o petróleo, o tabaco ou outros compostos que contenham carbono). Caso os precursores não contenham átomos de cloro, é então necessária a existência de uma fonte externa desse elemento para que seja possível a formação. A produção de cloro e de agentes

clorados, a nível mundial, assumiu patamares elevados¹⁶. Os cloroalcanos são vulgarmente utilizados como reagentes na produção de solventes industriais, produtos de limpeza, polímeros, pesticidas, materiais plásticos, sendo frequente a sua presença nos diferentes sistemas ambientais.

Relativamente à síntese *de novo*, a formação de PCDD/Fs aquando da combustão de matéria orgânica, assenta em duas vias principais:

- a) Reações de crescimento molecular dos precursores na fase gasosa (via homogénea);
- b) Reações de crescimento molecular catalisadas em superfícies (via heterogénea).

Diversos estudos têm demonstrado a presença dos cloroalcanos na atmosfera e, por conseguinte, sempre que se executa a combustão de matéria orgânica existe a considerável probabilidade de ocorrer a formação de congêneres de PCDD/Fs.

A formação de clorobenzenos (mais concretamente, o hexaclorobenzeno) a partir de clorofórmio (CHCl_3) ou tetraclorometano (CCl_4) foi verificada em diversos estudos. Neste sentido, foi constado que os precursores dicloroetino (C_2Cl_2), tricloroeteno (C_2HCl_3), tetracloroeteno (C_2Cl_4), hexacloropropeno (C_3Cl_6) e 1,3-hexaclorobutadieno (C_4Cl_6), quando submetidos a condições de pirólise, originam a formação de radicais intermediários, tais como o triclorovinilo ($\text{Cl}^\bullet\text{C}=\text{CCl}_2$), e o 1,3-pentaclorobutadienilo ($\text{CCl}_2=\text{CClCCl}=\text{C}^\bullet\text{Cl}$). Estudos mais recentes envolvendo os cloroalcanos (em particular, o tricloroeteno, o tetracloroeteno e o hexacloropropeno), mostraram que em condições de pirólise, podem ainda ser formadas outras espécies intermediárias [17,18].

Verifica-se assim, que a presença de cloro nas estruturas orgânicas iniciais desempenha um papel central neste tipo de reações.

Na figura 2.18 apresentam-se alguns dos possíveis mecanismos de reação que envolvem precursores em fase gasosa.

¹⁶ No mundo moderno o cloro é um composto fundamental, sendo essencial na produção de materiais para a construção (plásticos e etc.), na produção de vestuário protetor para o combate a incêndios, bem como na produção de medicamentos, drogas e agroquímicos, entre outros. Atualmente existem mais de 500 unidades de produção de compostos clorados a nível mundial, sendo que a sua capacidade de produção, alcançou em 2005, valores estimados em 2 biliões de dólares americanos. [26]

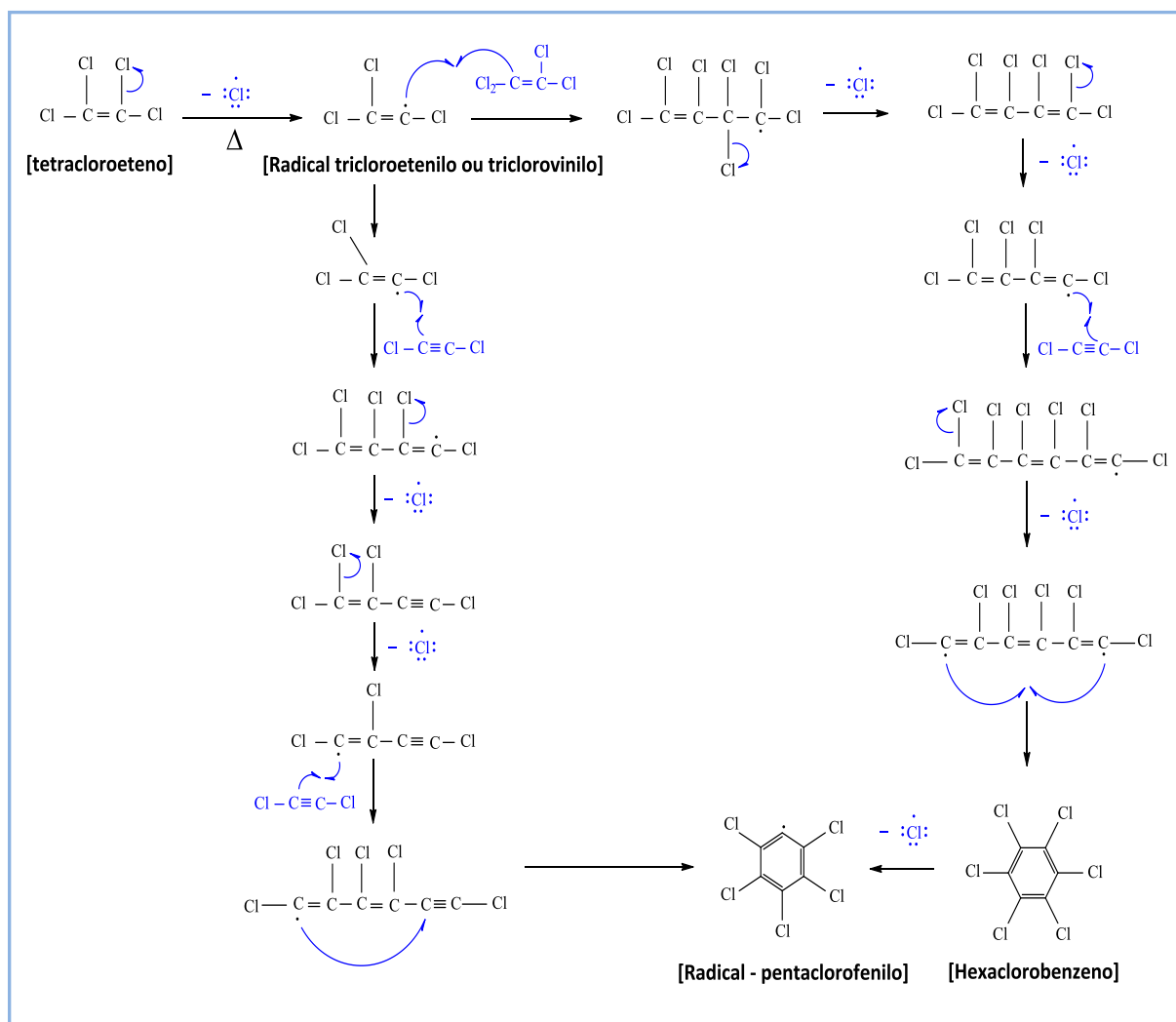


Figura 2.18. – Mecanismo de crescimento molecular do tetracloroeteno em fase gasosa. [17,18]

No mecanismo apresentado na figura 2.18, verifica-se que em condições de pirólise, o precursor tetracloroeteno (C_2Cl_4) perde por clivagem homolítica um átomo de cloro e origina o radical tricloroetenilo. Este radical pode reagir com outro, e mediante a eliminação de cloro, forma-se o hexaclorobenzeno. Contudo, o radical tricloroetenilo pode também dar origem ao radical pentaclorofenilo. Assim, após a criação das entidades hexaclorobenzeno e pentaclorofenilo é possível obter a formação de PCDD/Fs, pois tal como foi abordado anteriormente, as referidas entidades desempenham um papel fulcral na formação destes compostos (figuras 2.12 e 2.13). Seguidamente, na figura 2.19, apresenta-se o mecanismo reacional relativo ao crescimento molecular do hexacloropropeno (C_3Cl_6) em fase gasosa

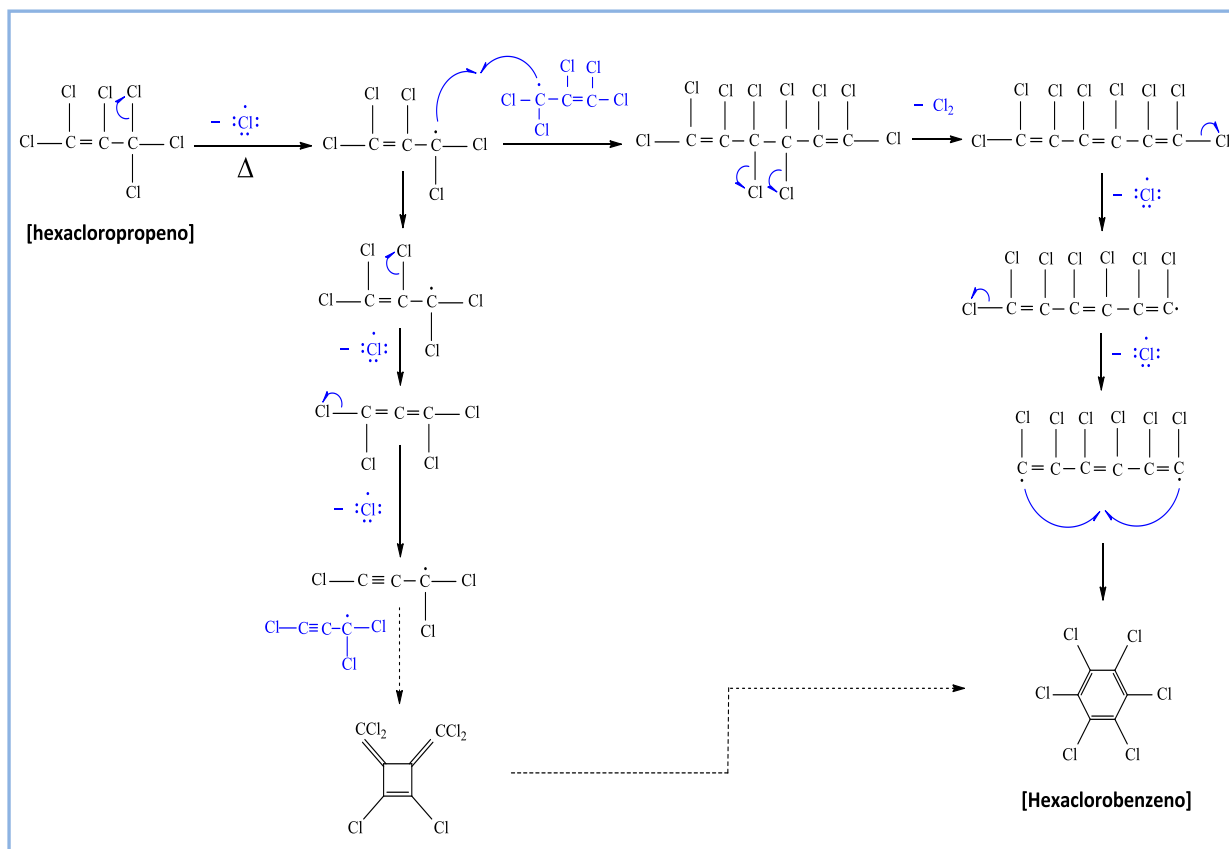


Figura 2.19. – Mecanismo de crescimento molecular do hexacloropropeno em fase gasosa. [17,18]

No que respeita às reações de formação de PCDD/Fs catalisadas em superfícies (via heterogénea), alguns estudos mostram que durante os processos de combustão ocorrem reações entre precursores e partículas de carbono [16,17,27,28]. Estas reações, normalmente acontecem na superfície de pequenas partículas, tal como a cinza, e podem ser catalisadas por metais de transição (por exemplo, o cobre, o ferro, o zinco, o alumínio, entre outros) [19,20]. Assim, após as reações obtêm-se novas estruturas anelares indispensáveis para a formação de PCDD/Fs. Relativamente aos catalisadores metálicos, verifica-se que o cobre e o ferro são os metais mais eficientes na catálise, promovendo a formação de maiores quantidades de congêneres de PCDD/Fs. Deste modo, na figura 2.20 apresenta-se um exemplo do referido mecanismo de formação.

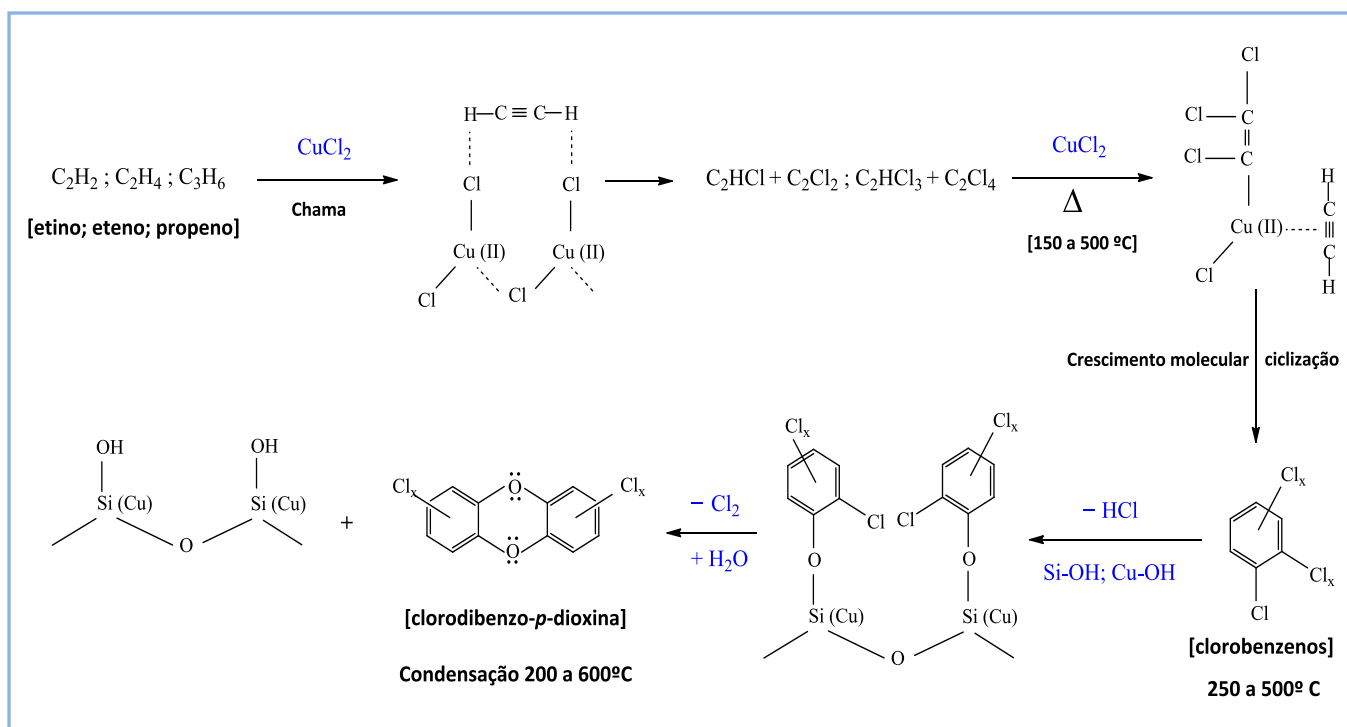


Figura 2.20. – Reações de formação de PCDD/Fs catalisadas em superfícies, envolvendo os precursores etino, eteno e propeno. [18]

Face ao exposto, verifica-se que a via que mais contribui para a formação de PCDD/Fs em processos de combustão através do mecanismo de síntese *de novo*, corresponde às reações catalisadas em superfícies (processo heterogéneo). Por esta via, são formados cerca de 70% do total de PCDD/Fs durante os processos de combustão, sendo os restantes 30% o resultado de processos homogéneos [19].

2.1.1.3.2. FATORES QUE INFLUENCIAM A FORMAÇÃO DE PCDD/Fs EM PROCESSOS TÉRMICOS

Sabe-se que os congêneres de PCDD/Fs estão presentes em todas as emissões de efluentes gasosos, provenientes de processos térmicos ou de combustão incompletos, nos quais haja presença de cloro. Neste sentido, na figura 2.21 apresenta-se um perfil típico da distribuição dos congêneres de PCDD/Fs numa amostra de efluente gasoso, proveniente de um processo de combustão.

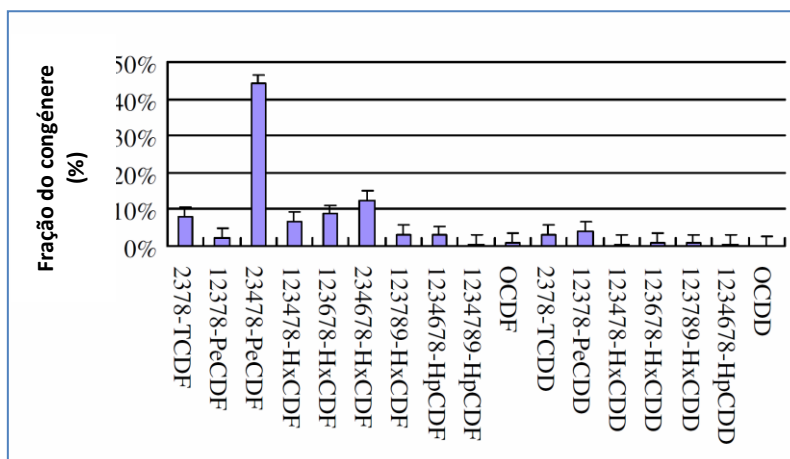


Figura 2.21. – Perfil dos congénères de PCDD/Fs numa amostra de efluente gasoso, proveniente de um processo térmico ou de combustão. [29]

Relativamente à formação dos congénères de PCDD/Fs nos processos térmicos, verifica-se que o processo está relacionado com o transporte dos gases de combustão para uma zona de temperaturas inferiores, que se situa entre os 250 e os 450°C. A presença de carbono (por exemplo, sob a forma de partículas de cinza), de sais de cloro, de catalisadores/ativadores (por exemplo, os metais de transição) e de compostos orgânicos, são como já foi referido, alguns dos fatores que contribuem para a sua formação [16,19,20]. Adicionalmente, verificou-se que outros fatores, tais como o oxigénio, o vapor de água e a temperatura, também desempenham um papel importante.

Temperatura

Estudos realizados por Rubey et al. [16] mostraram que existe relação inversa entre a estabilidade térmica dos PCBs e a formação de PCDFs; por exemplo, verificou-se que o 2,3,4,4',5-PeCB (PCB IUPAC #114) é estável até aos 700°C, e que aumentando a temperatura, existe um decréscimo do referido PCB e um aumento dos PCDFs. Verificou-se também, que são formados preferencialmente os PCDFs com menor grau de cloração, nomeadamente os tetraclorodibenzofuranos (TCDFs), tendo-se obtido o valor máximo de formação, relativamente aos PCBs, quando a temperatura atingiu o valor de 750°C. Subsequentes aumentos de temperatura originam decomposição dos PCDFs formados, alcançando-se a sua degradação completa, quando esta excede os 800°C.

Outros estudos sobre a formação de PCDD/Fs, em função da temperatura e do tempo de permanência, permitiram determinar o ponto máximo de formação destas substâncias [16]. As figuras 2.22 e 2.23 ilustram dois factos importantes:

- Existem dois máximos de temperatura, a 300°C e 470°C, na formação de congénères de PCDD/Fs em processos térmicos ou de combustão;
- A altas temperaturas os congénères de PCDDs são menos estáveis que os de PCDFs, isto é, a razão da concentração para os referidos congénères é superior a um ($PCDFs/PCDDs > 1$) para os processos térmicos ou de combustão.

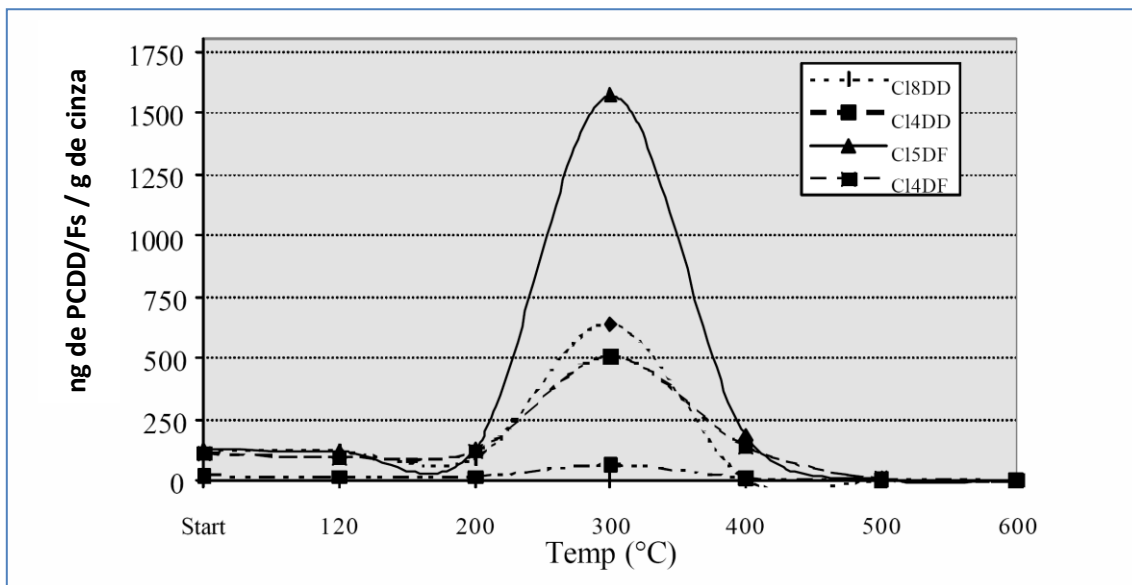


Figura 2.22. – Formação de PCDD/Fs em 2 horas de recozimento em função da temperatura.

Nesta figura, os termos Cl8DD, Cl4DD, Cl5DF e Cl4DF correspondem a Octaclorodibenzo-*p*-dioxina, Tetraclorodibenzo-*p*-dioxina, Pentaclorodibenzofurano e Tetraclorodibenzofurano, respetivamente. [16,27,30]

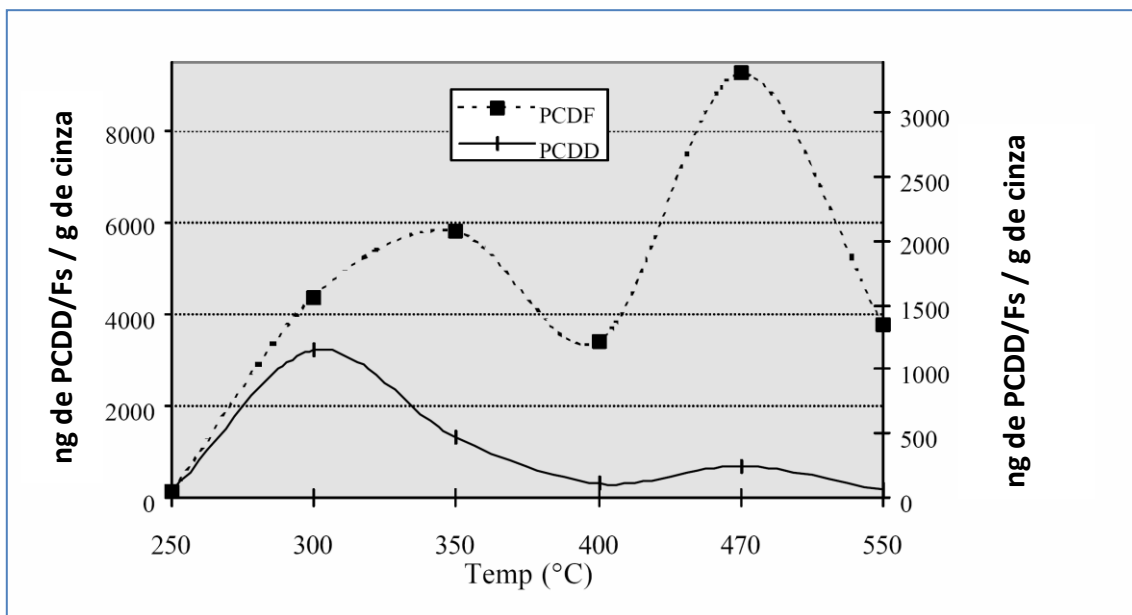


Figura 2.23. – Formação de PCDD/Fs em 2 horas de recozimento em função da temperatura. [16,31]

Tempo de permanência

O tempo de permanência é também um parâmetro importante, uma vez, que condiciona a destruição dos congêneres de PCDD/Fs que são formados. Assim, geralmente existe uma relação inversa entre a temperatura e o tempo de permanência, ou seja, temperaturas mais elevadas

requerem tempos de permanência menores para a destruição dos congêneres de PCDD/Fs, que estão presentes no efluente gasoso.

Precusores orgânicos relacionados

Os estudos de Karasek and Dickson (1987), bem como outros já mencionados, mostraram que compostos orgânicos clorados, tais como os clorofenóis ou clorobenzenos, atuam como precursores na formação de PCDDs/Fs, quando condensam nas partículas de cinza [16,17,18,19]. Nesses estudos, foi determinada a ação catalítica de alguns constituintes metálicos presentes na cinza, durante a formação de congêneres de PCDDs. Noutros trabalhos, Milligan e Altwicker (1996a, 1996b), verificaram que na fase gasosa, o composto 2,3,4,6-tetraclorofenol é o precursor mais eficiente para a formação de PCDDs [16].

Razão S/Cl (enxofre/cloro)

Em 1986, estudos efetuados por Griffin, permitiram estabelecer a hipótese que a formação de congêneres de PCDD/Fs pode estar relacionada com a razão entre a concentração de enxofre e cloro (razão S/Cl) [16]. Tendo por base o conhecimento, que os processos de combustão que utilizam os combustíveis fósseis produzem no efluente gasoso, um teor de congêneres de PCDD/Fs, inferior ao que se obtém na incineração de resíduos sólidos urbanos, foi estudada a influência da razão enxofre/cloro nos dois processos. Nos processos de combustão onde se utilizam os combustíveis fósseis a razão enxofre/cloro é de 5/1, enquanto que naqueles onde se incineram os resíduos sólidos urbanos, o valor é de 1/3.

Assim, em conformidade com a hipótese proposta por Griffin, o valor mais baixo para a razão enxofre/cloro nos processos de incineração de resíduos sólidos urbanos, induz a formação de cloro molecular (Cl_2). Esta reação ocorre em consonância com o processo de Deacon e é catalisada pela ação de agentes metálicos, tais como, o cobre, o ferro, o alumínio, entre outros [16,20].

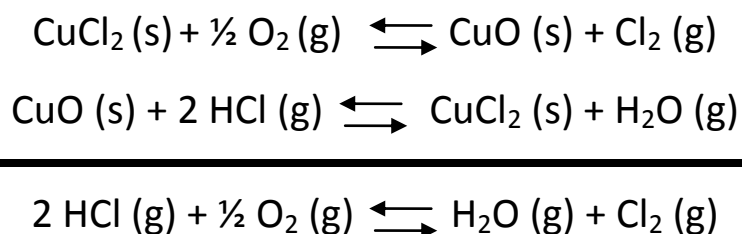


Figura 2.24. – Processo de Deacon em incineradoras de resíduos sólidos urbanos. [16,20]

Tal como abordado, a presença do cloro molecular (Cl_2) permite a formação de congêneres de PCDD/Fs através do mecanismo de síntese *de novo*. Segundo este processo, a combustão de

compostos químicos não relacionados ou matéria orgânica não clorada, na presença de dadores de cloro, permite a formação de congêneres de PCDD/Fs.

Por outro lado, nos processos de combustão que utilizam combustíveis fósseis, o valor superior da razão enxofre/cloro permite a captura do cloro molecular o que impede a formação de compostos orgânicos aromáticos.

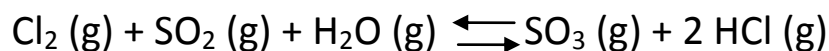


Figura 2.25. – Reação representativa da captura de cloro molecular em processos de combustão que utilizem combustíveis fósseis. [16,20]

Verifica-se então, que nos processos de combustão onde se utilizam combustíveis fósseis, a reação ilustrada na figura 2.25 predomina sobre a apresentada na figura 2.24, e por conseguinte nestes processos, o cloro molecular disponível é mais escasso o que limita a formação de congêneres de PCDD/Fs. Salienta-se ainda, que a combustão de outros combustíveis, tal como a lâ, também produz razões enxofre/cloro semelhantes às encontradas dos processos de combustão, em que se utilizam os combustíveis fósseis [16].

Esta hipótese é também corroborada pela análise da literatura científica, uma vez que normalmente encontra-se referido, que em operações em larga escala usualmente são detetados baixos teores de PCDD/Fs no efluente gasoso, sempre que se utiliza um combustível com elevado teor de enxofre. Verifica-se também, que nos processos de combustão onde se utilizam combustíveis fósseis, a presença do ácido clorídrico favorece a formação de PCDD/Fs, enquanto que elevadas concentrações de dióxido de enxofre, conduzem à formação baixos teores de PCDD/Fs (no primeiro caso a reação da figura 2.25 é deslocada no sentido da produção de Cl_2 , enquanto que no segundo no sentido da produção de HCl). Segundo os mesmos trabalhos, a razão enxofre/cloro crítica para a impedir a formação de PCDD/Fs tem o valor de 0,64, sendo que subsequentes aumentos na concentração do enxofre, não conduz à formação de menores teores de PCDD/Fs [16].

Face ao descrito, Raghunathan e Gullet, consideraram que a ação de inibição parcial da formação de congêneres de PCDD/Fs, que o dióxido de enxofre tem sobre o cloro molecular, realiza-se através da desativação dos centros de catálise do cobre presente nas partículas de cinza [16].

Presença de entidades cloradas

A presença de entidades cloradas é muito importante, uma vez, que regra geral, a cloração de compostos aromáticos ocorre na presença de cloro molecular. Algumas reações de substituição ocorrem na presença de partículas de cinza (em fase heterogénea e provavelmente com a ação de um catalisador), enquanto que outras ocorrem na fase gasosa (homogénea). Outros estudos mostraram, que a temperaturas superiores a 250°C, o ácido clorídrico cede o átomo de cloro a moléculas de tolueno ou de dibenzodioxinas não cloradas, que estejam adsorvidas em partículas de

cinza. Gullett et al. mostrou também, que agente mais eficiente para a cloração das referidas substâncias é o cloro na forma molecular. Neste sentido, verificou-se que o cloro consegue ser quatro vezes mais eficiente que o ácido clorídrico [16].

Oxigénio

Estudos laboratoriais e em escala piloto, conduziram à evidência de que o aumento da concentração de oxigénio resulta no incremento da formação de congéneres de PCDD/Fs. Vogg et al. Evidenciaram que o oxigénio gasoso “desloca” a reação de Deacon para a produção de cloro gasoso, e consequentemente, para a formação de compostos organoclorados [16]. Salienta-se também, que sobre condições de pirólise deficientes em oxigénio, a descloração dos congéneres de PCDD/Fs ocorre a temperaturas superiores a 300°C.

Catalisadores metálicos

Vários estudos mostram que o cobre e o ferro são os catalisadores mais eficientes para a formação de congéneres de PCDD/Fs [16,19,20,25]. Paralelamente existem evidências, de que alguns “pequenos” hidrocarbonetos, tais como, o etino e o eteno, são facilmente clorados na presença de cloreto de cobre, óxido de cobre ou ácido clorídrico (Froese e Hutzinger 1993,1996) [16]. Após a etapa de cloração, estas moléculas podem formar congéneres de PCDD/Fs através do mecanismo de síntese *de novo*. Outros estudos evidenciaram ainda que diversos metais, tais como, o zinco, o alumínio, o crómio, o níquel ou o manganês são também capazes de catalisar as reações de formação de congéneres de PCDD/Fs [16,32].

Outros parâmetros

Na ausência de partículas de cinza, os depósitos de resíduos/matéria acumulada nas partes, ou em seções das incineradoras, favorecem a formação de congéneres de PCDD/Fs, bem como outros poluentes (Kanters and Louw, 1996) [16,32]. Alguns resultados mostram que estes processos catalíticos desempenham um papel importante na formação de congéneres de PCDD/Fs, nomeadamente através da via de oxicloração, a temperaturas superiores a 600°C. Para além destes, fatores tal como a humidade, podem também potenciar a formação de congéneres de PCDD/Fs, uma vez, que promovem deficientes condições de combustão levando à criação de uma maior concentração de partículas de cinza.

2.1.1.3.3. MEDIDAS PARA IMPEDIR A FORMAÇÃO DE PCDD/Fs EM PROCESSOS TÉRMICOS

Considerando as disposições enunciadas acerca da produção dos congéneres de PCDD/Fs nos processos de combustão, para impedir a sua formação, há que atuar sobre os aspetos que promovem a sua origem, nomeadamente tomando algumas medidas:

1. Evitar baixas temperaturas de combustão, uma vez, que nestes processos a formação de congéneres de PCDD/Fs ocorre principalmente a temperaturas entre os 250° e 500° C (existem dois pontos máximos de formação de congéneres de PCDD/Fs em processos térmicos, respetivamente a 300°C e 470°C, ver figuras 2.22 e 2.23);
2. Reduzir o teor de compostos clorados que possam estar presentes no processo de combustão, bem como prevenir a formação excessiva de partículas de cinza;
3. Assegurar uma mistura perfeita entre os gases na câmara de combustão, manter a razão enxofre/cloro a níveis superiores a 0,64 (nos processo que utilizem combustíveis fósseis) e o teor de oxigénio em valores relativamente baixos;
4. Assegurar que os gases produzidos permanecem durante um período de tempo apropriado na câmara de combustão e manter a temperatura do processo em valores superiores a 800°C;
5. Instalar filtros de carvão ativado e outros sistemas de tratamento de efluentes gasosos de fim de linha nas fontes fixas de emissão (sistemas de lavagem de gases, filtros de mangas, ciclones e etc).

2.1.1.4. PCDD/Fs EM PROCESSOS INDUSTRIAIS HÚMIDOS

Paralelamente aos processos térmicos ou de combustão, os processos industriais húmidos são outra via de produção de congéneres de PCDD/Fs. Existem inúmeros processos industriais húmidos que podem originar estas substâncias (fabrico de pesticidas, branqueamento de papel, entre outros).

Tal como no caso dos processos térmicos ou de combustão, verifica-se que genericamente qualquer processo de síntese orgânica onde esteja presente o cloro, matéria orgânica (carbono e hidrogénio) e oxigénio é passível de originar a formação de congéneres de PCDD/Fs. Verifica-se também, que a tendência para a formação dos referidos congéneres segue a seguinte sequência; produção de clorofenóis e seus derivados > produção de compostos aromáticos clorados e seus derivados > produção de compostos clorados alifáticos > produção de compostos inorgânicos clorados.

Os principais mecanismos propostos para a formação de congéneres de PCDD/Fs através de processos industriais húmidos são os seguintes:

- 1) Cloração de compostos fenólicos e seus derivados com cloro na forma molecular (Cl_2 ou HCl) através da ação de catalisadores metálicos;
- 2) Reações de condensação de clorofenolatos, tais como, o pentaclorofenolato de metilo ($\text{CH}_3\text{OC}_6\text{Cl}_5$);
- 3) Produção de cloro a partir de sais alcalinos ou salmoura utilizando ânodos de grafite.

2.1.1.4.1. MECANISMOS DE FORMAÇÃO DE PCDD/Fs EM PROCESSOS INDUSTRIAIS HÚMIDOS

Um dos processos mais simples para a obtenção de congéneres de PCDD/Fs baseia-se nas reações de síntese industrial onde se obtêm clorofenóis ou clorobenzenos. Nas figuras 2.26 e 2.27 apresentam-se alguns dos mecanismos.

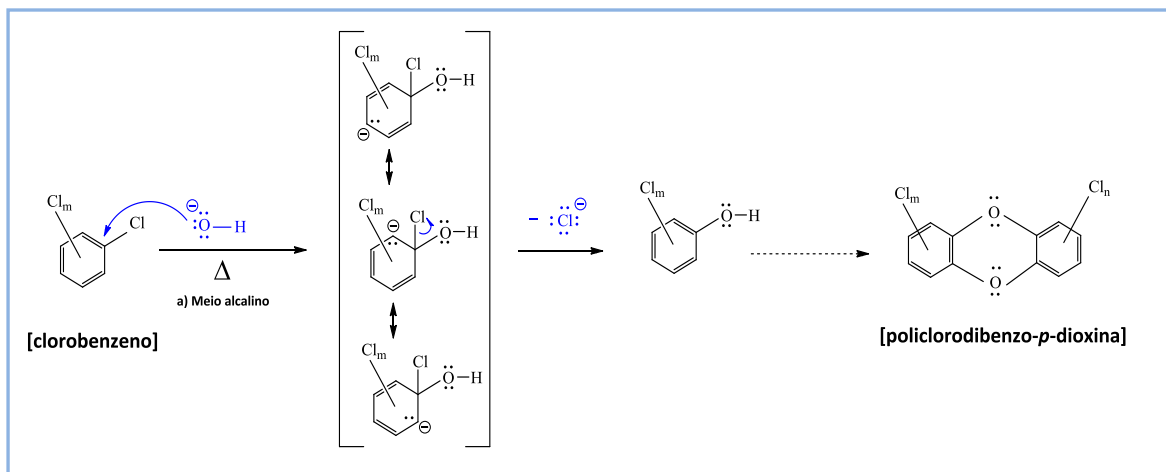


Figura 2.26. – Formação de policlorodibenzo-*p*-dioxinas a partir de clorobenzenos em meio alcalino.

Por outro lado, caso se tenha como ponto de partida um benzeno, o mecanismo é seguinte.

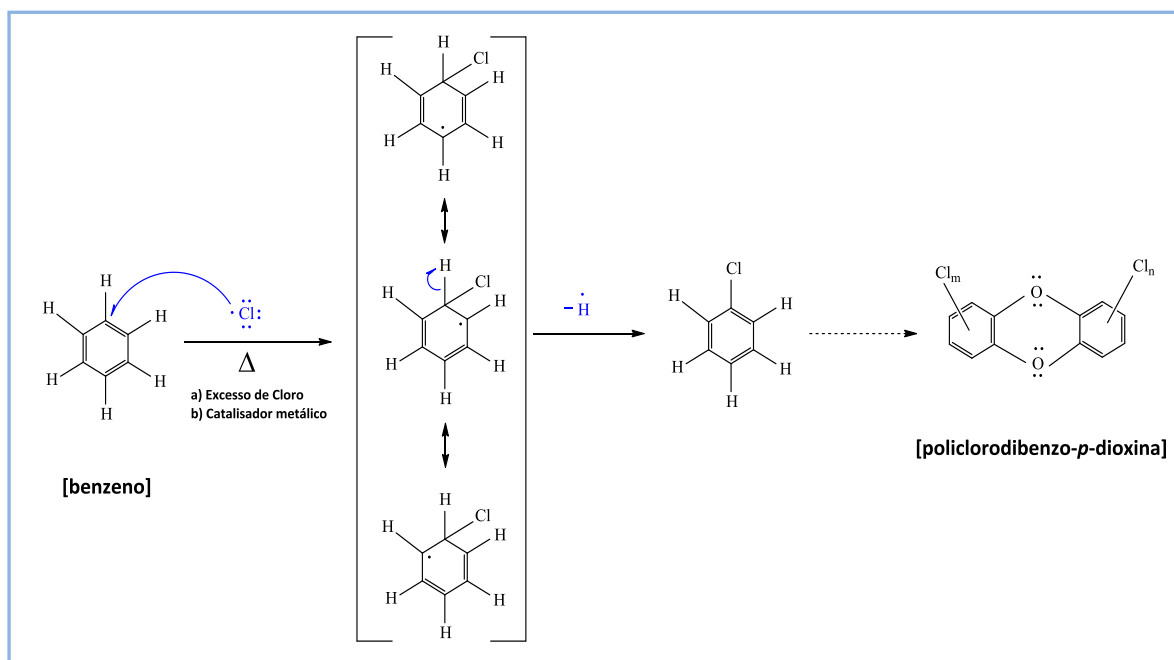


Figura 2.27. – Formação de policlorodibenzo-*p*-dioxinas a partir do benzeno.

Por último, apresenta-se outro mecanismo, onde o éter pentaclorofenílico e metílico (vulgarmente denominado por pentacloroanisole) constitui o precursor inicial para a formação de congêneres de PCDD/Fs.

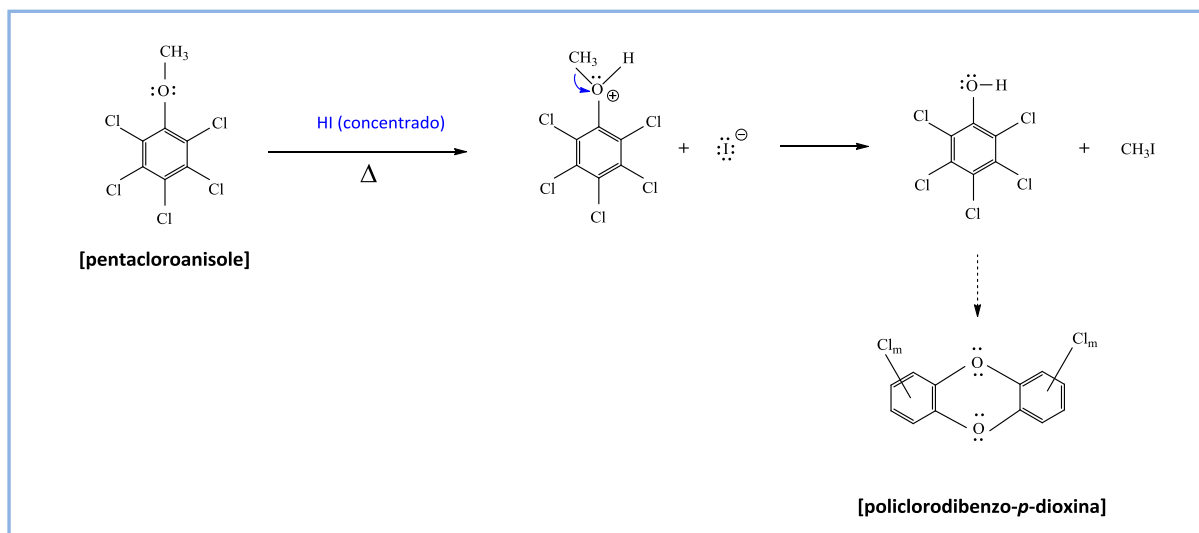


Figura 2.28. – Formação de policlórdibenzo-*p*-dioxinas a partir da reação do pentacloroanisole com iodeto de hidrogénio.

O mecanismo apresentado na figura 2.29 tem por base a reacção de clivagem dos éteres por ação de ácidos fortes (por exemplo, com HI, HBr ou HCl). Normalmente os éteres são compostos pouco reactivos, pelo que a sua cisão por intermédio de ácidos, requer a utilização de condições reacionais muito energéticas (soluções ácidas concentradas e temperatura elevada). Não obstante o referido, salienta-se, que tal como Hugounenq (1890) demonstrou, é possível obter congéneres de PCDD/Fs (designadamente, OCDD) por intermédio da reacção entre o pentacloroanisole e o ácido sulfúrico [11].

2.1.1.5. TOXICIDADE DOS PCDD/Fs

Os congéneres de PCDD/Fs, para além de outras características, possuem também elevada toxicidade. Todavia, a manifestação dos seus efeitos tóxicos nos seres vivos depende de diversos fatores, designadamente da espécie exposta, da raça, da idade e do nível de exposição efetivo. Neste âmbito, apresenta-se em seguida uma lista, na qual, se discriminam alguns dos principais efeitos que decorrem da exposição de seres vivos a congéneres de PCDD/Fs:

1. Perda de peso e anorexia;
2. Alterações hepáticas;
3. Alterações do sistema urinário;
4. Hiperplasia e hipertrofia do epitélio gastrointestinal;
5. Alterações pulmonares e cardiovasculares;
6. Alterações no sistema imunitário e desenvolvimento de imunodeficiência (perda de imunidade a infeções e de resistência a toxinas);

7. Edemas e alterações dérmicas ou cutâneas (por exemplo, o Cloracne¹⁷);
8. Efeitos no sistema reprodutivo (diminuição de fertilidade, abortos e atrofia testicular);
9. Teratogenicidade (propriedade de uma substância para induzir ou elevar o risco de uma malformação congénita, ou seja, qualquer defeito na constituição de algum órgão ou conjunto de órgãos que determine uma anomalia morfológica estrutural presente na altura do nascimento);
10. Carcinogenicidade (propriedade de uma substância para provocar alterações responsáveis pela indução do cancro);
11. Polineuropatia, debilidade muscular e défice sensorial.

Embora a lista seja extensa, em particular, chama-se a atenção do leitor para os aspetos que estão relacionados com o desenvolvimento de imunodeficiência, carcinogenicidade e teratogenicidade.

Neste âmbito, diversos estudos têm demonstrado que o congénere 2,3,7,8-TCDD é o mais tóxico de todos os PCDD/Fs, sendo também, o mais potente agente carcinogénico de natureza química jamais estudado pela EPA (*Environmental Protection Agency*). Os resultados dos estudos de toxicidade efetuados sobre a 2,3,7,8-TCDD são sobejamente conhecidos, designadamente através de diversas publicações científicas (Kimbrough et al., 1984, Fishbein et al., 1987, e NATO/CCMS, 1988) [6,7,33]. Verifica-se também que a substância 2,3,7,8-TCDD funciona diretamente como agente carcinogénico e não apenas como promotora do potencial carcinogénico de outras substâncias. Segundo a IARC (*International Agency for Research on Cancer*), o congénere 2,3,7,8-TCDD, está classificado como sendo um agente carcinogénico do grupo 1, o que significa que é uma substância reconhecida como carcinogénica para os seres humanos. Os restantes congéneres de PCDD/Fs estão classificados, de acordo com o mesmo organismo, como pertencendo ao grupo 3, ou seja, são substâncias que não estão classificadas quanto à carcinogenicidade para os seres humanos (as evidências dos seus efeitos carcinogénicos são limitadas a estudos com animais).

Constata-se portanto, que o congénere 2,3,7,8-TCDD é capaz de induzir a formação de tumores malignos em várias espécies de animais, incluindo os seres humanos. Outros estudos mostram também, que a capacidade para induzir a formação de tumores existe mesmo quando os animais são expostos a pequenas doses do referido congénere [6,7]. Finalmente salienta-se, que em contraste com outros tipos de agentes cancerígenos, os restantes congéneres de PCDD/Fs têm um poder mutagénico reduzido. Tal facto sugere que a sua atuação é baseada sobretudo no aspeto promotor

¹⁷ O Cloracne ou Acne Clórico é uma doença cutânea tipo Acne que origina espinhas, quistos e pústulas derivadas da exposição a certos compostos organoclorados, tais como, as policlorodibenzo-*p*-dioxinas, os policlorodibenzofuranos ou os bifenilos policlorados. As lesões localizam-se sobretudo nas bochechas, por trás das orelhas, nas axilas e na região das virilhas. Os primeiros relatos destes sintomas ocorreram em 1897, por Von Bettman, e pelo motivo de se pensar que esta doença era devida à exposição ao cloro denominou-se por Cloracne. Contudo, só em meados de 1950, foi possível estabelecer a relação direta entre a exposição humana a alguns compostos organoclorados e a doença, sendo que as lesões que resultantes da exposição podem ter um carácter permanente ao não. Salienta-se também, que um dos mais mediáticos incidentes de exposição humana a compostos organoclorados, ocorreu em 2004, quando o Presidente da Ucrânia (Viktor Yushchenko) ficou como rosto desfigurado devido ao envenenamento por substâncias organocloradas. Julga-se que foi utilizado o congénere 2,3,7,8-TCDD, tendo após o envenenamento sido detetados no seu sangue, níveis totais de PCDD/Fs superiores a 6000 vezes os valores normais no ser humano.

dos tumores, em detrimento do papel de iniciador dos processos cancerígenos, ou seja, os PCDD/Fs atuam sobretudo de forma indireta.

Os efeitos teratogénicos do congénere de 2,3,7,8-TCDD são também bastante significativos, manifestando-se sob a forma de diversas mal formações congénitas em recém-nascidos, tais como, a perda de imunidade, atrofia testicular, deficiências neurológicas entre outras. Neste último aspeto, a descoberta de deficiência neurológica nos recém-nascidos, deveu-se sobretudo à constatação destes sintomas em crianças nascidas na ilha de Kyoshu (Japão) e em Yucheng (Formosa) [34,35]. Relativamente a estes casos, salienta-se que eles tiveram a sua origem em acidentes industriais, os quais conduziram à contaminação de óleo com PCBs e vestígios de PCDD/Fs. Assim, verifica-se que alguns dos efeitos enunciados para os congénere de PCDD/Fs são comuns aos provocados por outros compostos organoclorados, só que os PCDD/Fs possuem um maior grau de toxicidade, pelo que, os seus efeitos costumam ser mais acentuados.

2.1.1.5.1. AÇÃO BIOLÓGICA DOS PCDD/Fs

O modo de atuação dos congénere de PCDD/Fs está relacionado com a sua aptidão para induzir atividade biológica, ou seja, com a sua capacidade de fixação a recetores proteicos específicos, tais como, o recetor aril hidrocarboneto (AhR). Este recetor é um fator citosólico de transcrição normalmente inativo, que na presença do congénere 2,3,7,8-TCDD, forma o complexo TCDD-AhR. Após esta formação, o complexo desloca-se para o núcleo da célula onde interfere no processo de transcrição dos genes, promovendo alterações ao nível genético. Os efeitos das alterações são diversos podendo assumir diferentes tipos de resposta (bioquímicas, morfológicas, imunológicas, reprodutivas e neoplásicas). Verifica-se contudo, que o congénere de 2,3,7,8-TCDD, ativa estes mecanismos sem danificar a estrutura primária do ácido desoxirribonucleico (ADN), uma vez, que os efeitos desta substância são reversíveis, ou seja, quando pára a exposição normalmente os sintomas cessão. Todavia, ainda não se conhece totalmente o mecanismo de atuação dos congénere de PCDD/Fs, embora se saiba que estas substâncias se comportam de forma semelhante às hormonas. O assunto, acerca da atividade biológica dos PCDD/Fs será explorado em maior detalhe, mais adiante, na discussão sobre fatores de equivalência de toxicidade dos congénere.

2.1.1.5.2. DEGRADAÇÃO METABÓLICA DOS PCDD/Fs

Desde os anos 70 que têm sido conduzidos diversos estudos acerca das características dos congénere de PCDD/Fs [6,36,37]. Eles demonstraram que estas substâncias cumprem o critério PBT (são persistentes, bioacumuláveis e tóxicas). Em particular, no que respeita à persistência, verifica-se que estas substâncias apresentam uma reduzida biodegradabilidade, resistindo fortemente a ataques bióticos e abióticos¹⁸.

¹⁸ Em ecologia, designam-se fatores bióticos todos os efeitos causados pelos organismos num ecossistema quando condicionam as populações que o formam. Por outro lado, os factores abióticos correspondem a todas as influências que os seres vivos possam receber num ecossistema, sejam derivadas de aspectos físicos, químicos ou físico-químicos do meio ambiente (por exemplo, a luz, a temperatura, o vento e etc.).

2.1.1.5.3. DEGRADAÇÃO BIÓTICA DE PCDD/Fs

A degradação biótica destas substâncias pode ocorrer de vários modos, nomeadamente através de degradação microbiológica ou metabólica. Embora não haja evidências concretas da sua degradação microbiológica no meio ambiente, alguns estudos mostram, que a 2,3,7,8-TCDD é passível de ser biodegradada através de fungos (em laboratório e em condições ideais) [6,14]. Esses estudos mostram também, que os processos de degradação natural para a 2,3,7,8-TCDD são extremamente lentos, verificando-se que no espaço de tempo de meses, apenas se degrada cerca de 1% do congénere original. Na tabela 2.5, apresentam-se os períodos de meia vida para alguns dos congéneres de PCDD/Fs no organismo dos seres humanos.

Tabela 2.5. – Períodos de meia vida de PCDD/Fs no organismo de seres humanos adultos. [38]

CONGÉNERES	PERÍODO DE MEIA VIDA (ANOS)	REFERÊNCIA
2,3,7,8-TCDD	5,8	Poiger e Schlatter (1986)
	7,1	Pirkle et al. (1989)
	9,7	Schlatter (1991)
1,2,3,7,8-PeCDD	15,7	Flesch-Janys et al. (1996)
	13,0	Rohde (1997)
1,2,3,4,7,8-HxCDD	8,4	Flesch-Janys et al. (1996)
	15,0	Schlatter (1991) – valor estimado
	26,2	Rohde (1997)
1,2,3,4,6,7,9-HpCDD	3,7	Flesch-Janys et al. (1996)
	25	Schlatter (1991) – valor estimado
	80-90	Viluksela et al. (1997)
1,2,3,4,6,7,8,9-OctaCDD	6,7	Flesch-Janys et al. (1996)
	50	Schlatter (1991) – valor estimado

Ainda no que respeita à degradação metabólica em organismos superiores, verifica-se que esta ocorre de forma muito lenta, sendo preferencialmente realizada através de reações de substituição de cloro por grupos hidroxilo [13]. Contudo, constata-se que os congéneres de PCDD/Fs que possuem cloro nas posições 2,3,7,8, em geral, exibem uma elevada resistência à degradação metabólica. Na figura 2.29 apresenta-se um dos mecanismos propostos para a degradação biológica de congéneres de PCDD/Fs.

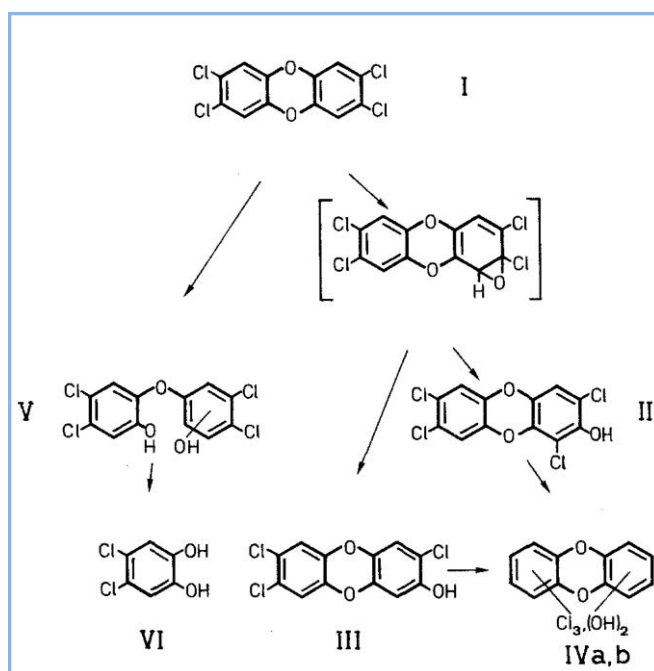


Figura 2.29. – Mecanismo genérico da degradação metabólica de 2,3,7,8-TCDD. [14]

A análise da figura 2.29 mostra, que degradação metabólica dos congêneres de PCDD/Fs conduz à formação de compostos menos tóxicos, e também, mais fáceis de eliminar pelo organismo dos seres vivos. Todavia, a combinação de uma elevada capacidade lipofílica com uma lenta velocidade de metabolização, conduz a tempos de permanência dos congêneres no interior dos organismos vivos significativamente elevados. Tal como se constata pela análise da tabela 2.5, vários estudos mostram, que o período de meia vida de alguns congêneres dentro do organismo dos seres humanos, pode variar entre 5 a 10 anos [6,7,14]. Sabe-se também que existe uma correlação positiva entre a toxicidade dos congêneres de PCDD/Fs e o seu período de meia vida de metabolização, ou seja, quanto mais tóxico é o congénere maior é o correspondente período de meia vida e, por conseguinte, mais difícil será a sua metabolização.

2.1.1.5.4. DEGRADAÇÃO ABIÓTICA DE PCDD/Fs

Para além dos processos de degradação biótica, os congêneres de PCDD/Fs, podem também ser degradados por ação de processos de origem abiótica, nomeadamente através da fotodegradação por luz solar ou ultravioleta. Este processo assume um real significado, uma vez, que no meio ambiente constitui uma via alternativa de degradação, sobretudo para os congêneres que sofrem processos de transporte atmosférico. Embora a fotodegradação seja igualmente possível noutros sistemas ambientais, tais como o solo, a água ou sedimentos, ela ocorre principalmente e de forma mais rápida, quando as substâncias estão em fase gasosa. Esta afirmação é corroborada por estudos que mostram que a degradação dos congêneres de PCDD/Fs por ação da luz, em meio aquático, é quase negligenciável, enquanto que na fase gasosa ela ocorre com razoável rapidez [6,14,39]. A título de exemplo salienta-se que o congénere 2,3,7,8-TCDD apresenta um período de meia vida de 10 anos, quando depositado sobre o solo e na ausência de luz solar. Contudo verifica-se, que a sua meia

vida diminui para apenas 200 horas, quando o mesmo congénere permanece em fase gasosa [6,14]. A tabela 2.6 apresenta os períodos de meia vida para dois congéneres de PCDDs, quando estes são submetidos a radiação de luz visível.

Tabela 2.6. – Períodos de meia vida de PCDDs em diferentes solventes. [14]

CONGÉNERES	SOLVENTE ORGÂNICO (MATRIZ)	PERÍODO DE MEIA VIDA (HORAS)
1,2,3,7,8-PeCDD	n-Hexadecano	7,8
1,2,3,6,7,8-HxCDD		6,8
1,2,3,7,8-PeCDD	Hexano	5,4
1,2,3,6,7,9-HxCDD		17
1,2,4,6,7,9-HxCDD		47

Na tabela 2.7 apresenta-se a percentagem de degradação do congénere 2,3,7,8-TCDD em dois tipos de solos ao longo do tempo.

Tabela 2.7.– Degradação do 2,3,7,8-TCDD em amostras de solos em função do tempo. [7]

Como método de controlo as duas amostras de solo foram expostas à temperatura de 700°C durante 21 segundos (o que correspondeu a uma degradação de 50% do teor inicial de 2,3,7,8-TCDD) e à temperatura de 800°C, também durante 21 segundos, (o que correspondeu à degradação total do teor inicial de 2,3,7,8-TCDD, isto é, 100%).

COMPARTIMENTO AMBIENTAL (MATRIZ)	CONCENTRAÇÃO DE 2,3,7,8-TCDD (ppm)	% DE 2,3,7,8-TCDD RECUPERADA DA AMOSTRA				
		20 dias	40 dias	80 dias	160 dias	350 dias
Solo arenoso	1	94	81	81	80	54
Solo argiloso	1	79	77	69	83	54
Solo arenoso	10	80	80	80	79	57
Solo argiloso	10	85	88	82	85	63
Solo arenoso	100	95	92	86	73	56
Solo argiloso	100	107	116	92	75	71

Na tabela 2.8 apresentam-se os períodos de meia vida dos congéneres 2,3,7,8-TCDD e OCDD em fase gasosa.

Tabela 2.8. – Períodos de meia vida dos congêneres 2,3,7,8-TCDD e OCDD em fase gasosa. [6]

CONGÉNERES	MATRIZ	PERÍODO DE MEIA VIDA (HORAS)
2,3,7,8-TCDD	Fase gasosa	200
OCDD		480

A análise das tabelas 2.6, 2.7 e 2.8, permite constatar que os tempos de degradação são bastante variáveis, dependendo essencialmente do tipo da matriz. Por exemplo, da tabela 2.7 pode-se retirar a informação, que após 350 dias, a quantidade de congénere 2,3,7,8-TCDD que ainda está presente na amostra de solo é superior a 50%. Assim, estes dados corroboram a elevada persistências dos congêneres de PCDD/Fs.

Para além do exposto, verifica-se que os congêneres de PCDD/Fs apresentam também outras características intrínsecas que contribuem para a sua elevada persistência nos diferentes sistemas ambientais, nomeadamente:

Fraca volatilidade – possuindo pressões de vapor significativamente baixas, não se torna fácil a sua dispersão no ar através da adsorção em partículas de aerossóis, pelo que, a sua permanência no compartimento ambiental solo é favorecida.

Elevada lipofilicidade – apresentando um coeficiente de partição octanol/água elevado ($\log K_{ow} > 4$) verifica-se que os congêneres de PCDD/Fs são moléculas com características lipofílicas.

Elevada estabilidade térmica – possuindo temperaturas de fusão significativamente altas, verifica-se que estas substâncias são termicamente estáveis e bastante difíceis de degradar, persistindo a temperaturas superiores a 700°C.

Apresenta-se em seguida, na tabela 2.9, uma súmula de algumas propriedades físicas dos congêneres de PCDD/Fs.

Tabela 2.9. – Caraterísticas físicas dos congéneres de PCDD/Fs. [40]

a) Valores estimados.

CONGÉNERE	TEMPERATURA DE FUSÃO/°C	PRESSÃO DE VAPOR/mmHg	SOLUBILIDADE EM ÁGUA/mg L ⁻¹ (A 25°C)	LOG KOW OCTANOL/ÁGUA
2,3,7,8-TCDD	305	1,50x10 ⁻⁰⁹	2,00x10 ⁻⁰⁴	6,8
1,2,3,7,8-PeCDD	240	-	1,53x10 ⁻⁰⁴ a)	6,6
1,2,3,7,8,9-HxCDD	273	-	4,40x10 ⁻⁰⁶	7,8
1,2,3,6,7,8-HxCDD	285	-	2,65x10 ⁻⁰⁵ a)	8,2 a)
1,2,3,7,8,9-HxCDD	243	-	2,65x10 ⁻⁰⁵ a)	8,2 a)
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	264	7,50x10 ⁻¹⁰	2,40x10 ⁻⁰⁶	8,2
OCDD	330	8,25x10 ⁻¹³	4,00x10 ⁻⁰⁷	8,2
2,3,7,8-TCDF	-	1,53x10 ⁻⁰⁶ a)	6,92x10 ⁻⁰⁴	6,5
1,2,3,7,8-PeCDF	-	3,46x10 ⁻⁰⁷ a)	8,73x10 ⁻⁰⁴ a)	6,8
2,3,4,7,8-PeCDF	-	3,46x10 ⁻⁰⁷	2,35x10 ⁻⁰⁴	6,9
1,2,3,4,7,8-HxCDF	-	-	-	-
1,2,3,6,7,8-HxCDF	-	-	-	-
2,3,4,6,7,8-HxCDF	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	2,01x10 ⁻⁰⁸ a)	1,35x10 ⁻⁰⁶	7,9
OCDF	258	3,75x10 ⁻¹²	1,16x10 ⁻⁰⁶	8,6

2.1.2. COMPOSTOS BIFENILOS POLICLORADOS COM ATIVIDADE DE DIOXINA

Os compostos bifenilos policlorados constituem uma família de 209 compostos de propriedades e estrutura semelhantes. Constituídos apenas por átomos de hidrogénio, carbono e cloro apresentam uma estrutura bianelar composta por dois anéis de benzeno unidos entre si, tal como se apresenta na figura 2.30.

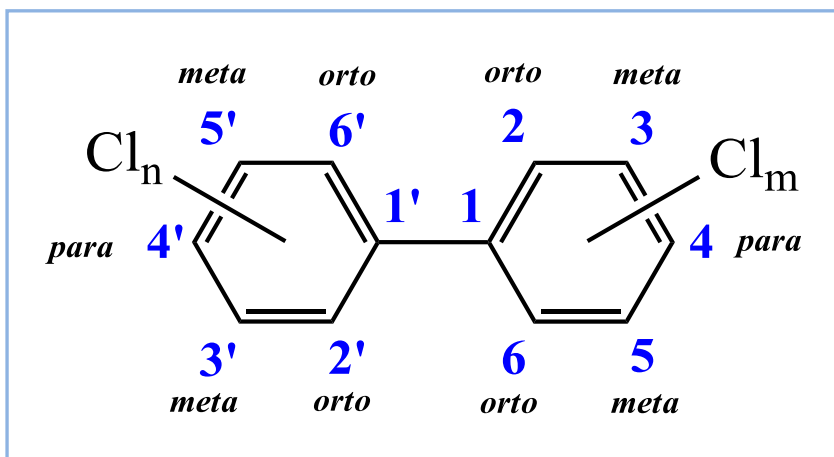


Figura 2.30. – Estrutura dos Compostos Bifenilos Policlororados ($1 \leq n+m \leq 10$).

A figura 2.30 permite constatar, que o número de átomos de cloro de uma molécula de PCB pode variar entre um e dez, conferindo aos respetivos congéneres diferentes níveis de toxicidade. Tal como no caso dos PCDD/Fs, a toxicidade dos PCBs está relacionada com diversos fatores, sendo que regra geral, esta característica depende essencialmente da posição ou do número de átomos de cloro presentes em cada molécula. Assim, verifica-se que algumas posições ocupadas pelos cloros, nomeadamente as *orto* (2, 2' ou 6, 6') impedem a liberdade de rotação dos anéis sobre o eixo de ligação que os une, o que se traduz numa reduzida planaridade das moléculas dos PCBs. Deste modo, dos 209 congéneres de PCBs, constata-se que apenas 20 não contém cloro nas posições *orto*, permitindo assim que as moléculas assumam uma conformação¹⁹ planar [41,42].

Todavia, a referida propriedade, não é exclusiva dos congéneres de PCBs que não dispõem de de cloros nas posições *orto*, uma vez que se verifica, que os congéneres de PCBs substituídos, com apenas um ou dois átomos de cloro nessas posições, também podem assumir conformações planas (Safe, 1990) [41]. Por este motivo, é frequente encontrar-se na literatura científica a designação de PCBs planares, quando se pretende fazer referência aos congéneres de PCBs cujos átomos de cloro não ocupam as quatro posições *orto* (PCBs non-*orto*), ou que simplesmente ocupam, um ou dois locais dessas posições (PCBs mono ou di-*orto*, respetivamente). Dos 209 PCBs, os congéneres que podem assumir a referida conformação planar, possuem regra geral, atividade biológica.

As massas moleculares das moléculas de PCBs com atividade de dioxina variam desde as 188,0393 u (referentes dos três isómeros monoclorados) até 497,6826 u (relativamente ao congénere decaclorado).

¹⁹ Designa-se por conformação os arranjos atómicos diferentes que se transformam uns nos outros por meio de rotação em torno de ligações simples.

Tabela 2.10. – Número de isómeros, fórmula molecular e massa molecular dos PCBs. [9]

Massas de cada átomo em u: 12C = 12,00000, 1H = 1,007825, 35Cl = 34,968853 e 16O = 15,994915. Abundâncias relativas dos isótopos foram determinadas pelo método descrito em : Prest, Clerc e Simon, em que as abundâncias naturais dos diferentes isótopos são as seguintes: 12C = 98,89% e 13C = 1,1%, 1H = 99,985% e 2H = 0,015%, 35Cl = 75,53% e 37Cl = 24,47% e 16O = 99,759%, 17O = 0,037% e 18O = 0,204%.

CONGÉNERE	NÚMERO DE ISÓMEROS	FORMULA QUÍMICA DO CONGÉNERE PCB	MASSA DA MOLÉCULA EM U (ISÓTOPO ³⁵ Cl)
Monoclorado	3	C ₁₂ H ₉ Cl	188,0393
Diclorado	12	C ₁₂ H ₈ Cl ₂	223,9974
Triclorado	24	C ₁₂ H ₇ Cl ₃	257,9584
Tetraclorado	42	C ₁₂ H ₆ Cl ₄	291,9194
Pentaclorado	46	C ₁₂ H ₅ Cl ₅	325,8804
Hexaclorado	42	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	359,8415
Heptaclorado	24	C ₁₂ H ₃ Cl ₇	395,7995
Octaclorado	12	C ₁₂ H ₂ Cl ₈	429,7606
Nonaclorado	3	C ₁₂ HCl ₉	463,7216
Decaclorado	1	C ₁₂ Cl ₁₀	497,6826
TOTAL	209		

2.1.2.1. ORIGEM E PROVENIÊNCIA DOS PCBs

Relativamente ao PCBs com atividade de dioxina, verifica-se que estas substâncias, ao contrário do que sucede com os congêneres de PCDD/Fs, não se originam vulgarmente através de processos de origem natural. Convém contudo salientar, que sendo a formação de congêneres de PCDD/Fs possível em processos térmicos, verifica-se que a formação de congêneres de PCBs com atividade de dioxina, também pode ocorrer durante esses mesmos processos. Deste modo, é possível a obtenção de congêneres de PCBs com atividade de dioxina em incêndios, ainda que de origem natural, mas nos quais, estejam presentes vestígios de matéria orgânica carbonada e cloro. Não obstante o referido, a produção de PCBs com atividade de dioxina acontece essencialmente através de processos de origem antropogénica, pois contrariamente ao caso dos congêneres de PCDD/Fs, os PCBs já foram produzidos de forma intencional. Sintetizados pela primeira vez em 1881, e introduzidos no mercado em 1929 pela empresa Monsanto Chemical Corporation USA, os PCBs foram produzidos de forma sistemática em diversos países (nomeadamente, nos EUA, em países europeus, no Japão e outros). A introdução no mercado deveu-se sobretudo ao reconhecimento de algumas características importantes destes compostos, tais como, a baixa condutividade elétrica, a elevada resistência (térmica, mecânica e química) e a baixa solubilidade em água. Neste sentido, estas e outras propriedades, potenciaram a sua aplicação em diversas áreas, designadamente no fabrico de

lubrificantes, fluidos hidráulicos, aditivos, corantes, tintas, pesticidas, retardantes de chama, entre outros.

Atualmente, a sua produção e introdução no mercado está proibida em vários países, nomeadamente na UE, nos EUA e no Japão. Durante o período em que foram permitidos, eram usualmente comercializados em misturas com nomes, tais como, Aroclor (Monsanto, EUA), Clophen (Bayer, Alemanha), Kanechlor (Kanegafuchi, Japão), Santotherm (Mitsubishi, Japão) e Phenoclor ou Pyralene (Prodec, França). Estas, normalmente continham diferentes teores e congêneres de PCBs. Na tabela 2.11 apresentam-se algumas misturas de PCBs que foram comercializadas pela empresa Monsanto Chemical Corporation USA.

Tabela 2.11. – Congêneres de PCBs e percentagem de cloro em óleos da empresa Monsanto Chemical Corporation, USA. [43]

MISTURA	PERCENTAGEM DE CLORO	CONGÉNERES NA MISTURA
Aroclor 1016	41%	mono, di, tri e tetra - PCBs
Aroclor 1232	32%	mono, di, tri e tetra - PCBs
Aroclor 1242	42%	mono, di, tri, tetra, penta e hexa - PCBs
Aroclor 1248	48%	di, tri, tetra, penta e hexa - PCBs
Aroclor 1254	54%	tetra, penta, hexa e hepta - PCBs
Aroclor 1260	60%	penta, hexa, hepta, octa e nona - PCBs

Devido, essencialmente aos seus efeitos adversos nos seres vivos (elevada toxicidade, persistência e bioacumulação no meio ambiente), estas substâncias têm suscitado elevada preocupação. Foi sobretudo a partir de 1970, que alguns acidentes com misturas de PCBs precipitaram alguma inquietação ao nível do ambiente e da saúde pública. Assim, em seguida, apresenta-se uma breve descrição de alguns desses acontecimentos:

1. A descoberta por Soren Jensen (em 1966 na Suécia) de uma molécula desconhecida no tecido de muscular de uma águia marinha de cauda branca, durante estudos sobre o pesticida DDT. Soren verificou, que a referida molécula estava presente em níveis de concentração mais elevados no tecido muscular da águia, do que em amostras de peixe recolhido nos seus habituais locais de alimentação. Conhecendo que a águia marinha de cauda branca se alimentava sobretudo de peixe, Soren sugeriu, que a molécula desconhecida devia de ser persistente dentro do organismo dos seres vivos, e por conseguinte, difícil de biodegradar [44].
2. A contaminação de óleo de arroz com PCBs (em 1968 na ilha de Kyoshu, Japão). Nesta ilha, cerca de 2000 pessoas foram intoxicadas devido ao consumo do óleo de arroz que estava contaminado com PCBs e PCDD/Fs. Posteriores investigações determinaram que a contaminação do arroz resultou de uma fuga de óleo com PCBs (Kanechlor 400), da unidade de aquecimento da empresa Kanemi Rice Oil [34];
3. A contaminação de óleo de arroz com PCBs (em 1979 Yucheng, Taiwan, ou em Português, Formosa). Neste acidente, cerca de 2000 pessoas foram intoxicadas devido ao consumo de óleo de arroz contaminado com PCBs. Subsequentes investigações apuraram que a contaminação ficou a dever-se a uma fuga de fluidos industriais com PCBs [35];

4. A deteção de elevados níveis de contaminação de PCBs em peixes do rio Hudson (Nova Iorque, EUA). A origem desta contaminação esteve relacionada com as atividades de produção de equipamentos elétricos (designadamente, capacitadores) em duas unidades da empresa General Electric Company, situadas na margem norte do rio. Estudos posteriores permitiram verificar, que nas linhas de produção, eram utilizadas as misturas de PCBs com os fluidos elétricos (Aroclor 1242 e 1016).

Estes e outros acontecimentos lançaram os PCBs para o destaque do debate público, tendo em 1973 a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE), imposto aos seus membros a limitação da utilização dos PCBs e o desenvolvimento de mecanismos de controlo. Posteriormente, foi proibida a sua produção, comercialização e uso (nomeadamente, na Europa, nos Estados Unidos e no Japão).

Atualmente verifica-se, que as principais fontes introdução de congéneres de PCBs no ambiente são as seguintes:

1. Fluidos dielétricos de postos de transformação (capacitadores, transformadores e reguladores de voltagem);
2. Materiais isolantes, óleos lubrificantes e ceras;
3. Tintas, retardantes de chama e materiais plastificantes;
4. Revestimentos de superfícies;
5. Asfalto e condutas de gás natural;
6. Produtos para tratamento superficial de fibras têxteis e mobiliário;
7. Pesticidas, herbicidas e PVC;
8. Emissões de incineradoras e co-incineradoras de resíduos (urbanos, industriais e hospitalares);
9. Alimentos contaminados.

2.1.2.2. TOXICIDADE DOS PCBs

Tal como se referiu, os compostos bifenilos policlorados, são compostos sintéticos produzidos pelo ser humano. Embora também seja possível a sua produção através de processos de origem natural, nomeadamente em algumas combustões, no essencial, a presença destas substâncias nos diversos sistemas ambientais, está associada à produção intencional de óleos ou aditivos, que até finais da década de 1970, eram utilizados em diversas aplicações (equipamentos elétricos e hidráulicos, tintas, plásticos, retardantes de chama, entre outros).

De um modo menos formal, os PCBs com atividade de dioxina podem ser divididos em três classes, designadamente os PCBs coplanares (PCBs *non-orto*), os PCBs substituídos nas posições *orto* com um átomo de cloro (PCBs *mono-orto*) e os PCBs substituídos nas posições *orto* com dois átomos de cloro (PCBs *di-orto*).

Não obstante o referido, alguns estudos permitiram constatar, que os PCBs da classe *mono* ou *di-orto* substituídos, também podem apresentar uma conformação molecular plana, pelo que, estes PCBs podem induzir atividade biológica semelhante à dos PCBs *non-orto*. Verifica-se assim, que as

três classes de PCBs são capazes de induzir a formação de tumores, bem como potenciar o efeito carcinogénico de outras substâncias. Sabe-se também, que a exposição aos PCBs, em particular, durante o período de gestação ou pré-natal, pode conduzir a alguns dos seguintes problemas:

1. Carcinogenicidade (estão classificados como pertencentes ao grupo 2A e 2B – provavelmente carcinogénico para humanos);
2. Alterações no sistema imunitário e desenvolvimento de imunodeficiência;
3. Défices no desenvolvimento neurológico;
4. Hipotireoidismo;
5. Infertilidade e alterações no sistema reprodutor;
6. Desenvolvimento de doenças cardiovasculares e de hiperlipidemia (concentrações elevadas de gorduras, colesterol ou triglicerídeos no sangue);
7. Desenvolvimento de hipertensão, diabetes ou asma;
8. Desenvolvimento de doenças do fígado;
9. Desenvolvimento de artrite (doença caracterizada pela inflamação das articulações e que pode levar a incapacitação funcional).

Por último, salienta-se ainda que a exposição humana aos PCBs com atividade de dioxina induz efeitos distintos da exposição aos PCBs que não possuem este tipo de propriedade. A explicação deste facto parece estar relacionada com os diferentes tipos de mecanismo de atuação destas duas classes de substâncias.

2.1.2.3. AÇÃO BIOLÓGICA DOS PCBs

A toxicidade dos PCBs com atividade de dioxina, tal como no caso dos congéneres PCDD/Fs, está relacionada com a ativação da proteína designada por AhR. Esta é um regulador da transcrição de muitos genes, incluindo os codificadores dos enzima envolvidos no metabolismo de xenobióticos, tais como, os genes codificadores de fatores do crescimento e diferenciação celular. A AhR regula a expressão da proteína Citocromo P450 1A (CYP1A), agindo através de indução genética e promovendo o aumento ou a redução dos níveis de alguns produtos dos genes [41,42]. Sabe-se também, que o mecanismo de ação dos PCBs com conformação planar sobre os reguladores AhR, é em tudo semelhante à dos congéneres de PCDD/Fs. Assim, embora a atuação dos congéneres de PCBs com atividade de dioxina sobre o regulador AhR seja inferior à da 2,3,7,8-TCDD (o congénere de PCDD/Fs mais tóxico), observa-se que alguns dos PCBs com atividade de dioxina demonstram uma atuação intensa sobre o referido recetor (por exemplo, o PCB IUPAC #126)). Como resultado desta característica, verifica-se que alguns PCBs com atividade de dioxina manifestam uma maior toxicidade para os seres vivos do que alguns dos congéneres de PCDD/Fs.

Todavia, apesar do mecanismo de atuação dos PCBs com atividade de dioxina sobre o regulador AhR começar a ser compreendido, ainda subsistem inúmeras dúvidas acerca da sua forma de atuação. Atualmente pensa-se, que a toxicidade dos PCBs com atividade de dioxina provém da capacidade de

troca de eletrões entre as moléculas e os componentes das células [45]. Julga-se também, que este processo pode induzir danos na transcrição do ADN, pelo que se torna importante, compreender e avaliar a afinidade eletrónica dos diferentes congéneres de PCBs. Neste âmbito, alguns estudos mostram que a afinidade eletrónica está relacionada com a conformação molecular, sendo que a transferência de eletrões nas moléculas de PCBs promove alterações no ângulo de torção entre os dois anéis benzénicos, e consequentemente, na geometria das moléculas. Verifica-se ainda, que nas moléculas de PCBs com atividade de dioxina, a presença de átomos de cloro nas posições *meta* e *para* não influencia o ângulo de torção entre os anéis de benzeno, o que contribui para uma maior planaridade dessas moléculas. Deste modo, as moléculas que cumpram as referidas condições, normalmente apresentam uma conformação planar. Este tipo de conformação, aliado à “liberdade” de rotação dos anéis benzénicos sobre seu eixo de ligação, permite uma maior facilidade na transferência de eletrões, entre a molécula de PCB com atividade de dioxina e os componentes das células, o que contribui para o aumento da toxicidade do congénere.

Inversamente, a presença dos volumosos átomos de cloro nas posições *orto* (por comparação com os átomos de hidrogénio), faz com que o ângulo de torção entre os anéis benzénicos possa chegar aos 90°. Esta conformação perturba a transferência de eletrões, o que se reflete numa menor atividade biológica e, por conseguinte, numa menor toxicidade do congénere.

Face ao exposto, torna-se simples compreender e explicar a sequência de decréscimo da toxicidade dos congéneres de PCBs com atividade de dioxina, uma vez, que ela ocorre segundo o gradiente; PCBs non-*orto* (mais tóxico) > PCBs mono-*orto* > PCBs e di-*orto* (menos tóxico). Por outro lado, uma análise detalhada da estrutura molecular permite também verificar, que os congéneres de PCBs non-*orto* correspondem aproximadamente aos estereoisómeros da molécula 2,3,7,8-TCDD e, por conseguinte, apresentam maior toxicidade que restantes.

2.1.2.4. DEGRADAÇÃO DOS PCBs

Relativamente aos PCBs com atividade de dioxina, foram também conduzidos diversos estudos que demonstram que algumas bactérias e fungos possuem a habilidade de os degradar [6,14]. Neste sentido, sabe-se que a degradação biológica dos PCBs por microorganismos ocorre sobretudo pela ação dos seus enzimas, os quais decompõem os PCBs noutros compostos orgânicos mais simples. Estudos recentes mostram ainda, que a rapidez da degradação dos PCBs depende também de diversos fatores, tais como, o grau de cloração, a posição dos cloros na molécula, a solubilidade dos compostos e a temperatura e pH do meio [14,46]. Verifica-se portanto a existência de uma relação inversa entre a rapidez da degradação bacteriológica e o grau de cloração dos PCBs, ou seja regra geral, quanto mais elevado for o grau de cloração de um dado PCB mais lento será o seu processo de biodegradação. Este facto, deriva sobretudo da habilidade que os microorganismos possuem para degradar os poluentes que estão dissolvidos em água (que estão mais facilmente acessíveis). Assim, a reduzida solubilidade dos PCBs com maior grau de cloração atenua a acessibilidade destes pelos microorganismos e, por conseguinte, dificulta a sua biodegradação. Por outro lado, os congéneres de PCBs menos substituídos, são em geral mais solúveis em água, mais voláteis e, consequentemente, mais fáceis de metabolizar pelos seres vivos (o que se traduz numa menor persistência no ambiente).

Sabe-se também, que a degradação dos PCBs ocorre essencialmente através de reações de substituição dos átomos de cloro, sendo que estas são favorecidas quando os cloros se encontram nas posições *meta* ou *para* [14,46].

Na figura 2.31, apresentam-se alguns mecanismos propostos para a degradação de moléculas de PCBs.

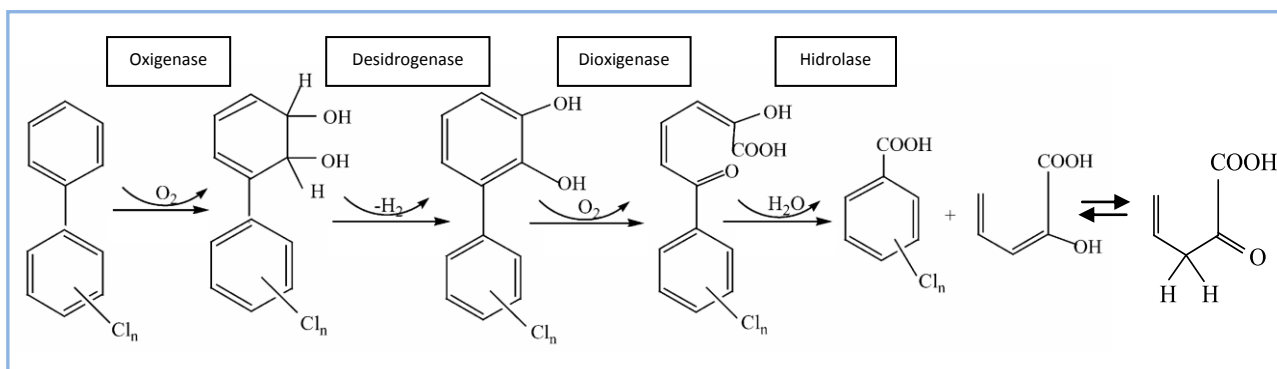


Figura 2.31. – Mecanismo de degradação metabólica de PCBs por ação enzimática. [46]

2.2. FATORES DE EQUIVALÊNCIA DE TOXICIDADE (TEF)

Já referia Paracelsus que “Todas as coisas são venenos ... apenas a dose determina que algo não é um veneno”. Assim, um dos grandes problemas colocados para a avaliação da toxicidade de amostras ambientais oriundas de distintos sistemas, deriva do facto dessas amostras geralmente possuírem uma composição diferenciada, em particular no que diz respeito à presença de congêneres de PCDD/Fs ou PCBs com atividade de dioxina. Deste modo, a natureza complexa e variável de amostras ambientais, contendo diversos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina na sua composição, introduz dificuldades na avaliação do risco. Por exemplo, uma amostra que contenha vários congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina apresentará uma determinada toxicidade. Esta estará relacionada com a concentração e com grau de toxicidade de cada congénere, pelo que uma das maneiras de avaliar a toxicidade total da amostra (TEQ), consiste em multiplicar a concentração de cada congénere por um fator que traduza o seu grau relativo de toxicidade. Posteriormente, e assumindo como condição que a toxicidade pode ser descrita por uma função aditiva, obtém-se a seguinte equação.

$$\text{TEQ [amostra]} = \sum [(\text{Conc. de PCDD}_i \times \text{TEF}_i) + (\text{Conc. de PCDF}_k \times \text{TEF}_k) + (\text{Conc. de PCB}_p \times \text{TEF}_p)]$$

Figura 2.32. – Fórmula para a determinação da toxicidade total de uma amostra. [6,47]

O referido fator, vulgarmente denominado por Fator de Equivalência de Toxicidade (TEF do inglês *Toxic Equivalence Factor*), traduz o grau de toxicidade de cada congénere relativamente ao

congénere de 2,3,7,8-TCDD, pelo que, a sua aplicação permite converter a toxicidade individual de cada congénere em quantidade equivalente de 2,3,7,8-TCDD (TEQ – inglês *Toxic Equivalence Quantity*, corresponde à Quantidade Equivalente de Toxicidade obtida por ponderação de massa, determinada com base nos correspondentes TEF de cada congénere). A escolha do congénere de 2,3,7,8-TCDD como unidade de referência baseia-se essencialmente em dois motivos. O primeiro, é que esta é a policlorodibenzo-*p*-dioxina mais estudada, e portanto, sobre a qual existem mais dados científicos. O segundo relaciona-se com o facto, de não haver disponíveis dados toxicológicos detalhados para todos os congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina.

Relativamente à aditividade da toxicidade dos diferentes congéneres, diversas evidências científicas demonstram, que em misturas binárias e outras mais complexas de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, os congéneres interagem de modo a potenciar uma toxicidade total nas amostras, que não se desvia significativamente da aditividade das suas doses individuais. Estas evidências incluem estudos onde se expõem diversas classes de vertebrados (por exemplo, peixes, aves ou mamíferos), a misturas de congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Na maior parte dos estudos comprova-se esta assunção inicial da toxicidade poder ser descrita por uma função aditiva, no entanto, foram também detetadas algumas interações não aditivas entre congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Assim, suspeita-se que este tipo de interações se deva sobretudo a múltiplos mecanismos de ação individual dos congéneres e/ou a interações farmacocinéticas. Não obstante serem reconhecidos alguns desvios e incertezas, relativamente ao valor da toxicidade estimada para uma amostra pelo uso do conceito de TEF, esta metodologia continua a ser um método eficiente e expedito para avaliar a toxicidade total das amostras. Ainda segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o uso do congénere de 2,3,7,8-TCDD como única medida da exposição a congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, subestima gravemente o risco de exposição dos seres humanos a estas classes de compostos. Neste sentido, recomenda a referida organização, que a metodologia TEF deve ser empregue, para expressar o valor da ingestão diária de congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em quantidades equivalentes de 2,3,7,8-TCDD (TEQ). Posteriormente, o valor determinado pode e deve ser comparado com o valor da dose diária tolerada definido pelos organismos internacionais.

Entretanto e tal como se mencionou, vários estudos mostram que os congéneres de PCDD/Fs que apresentam simultaneamente átomos de cloro nas posições 2,3,7,8 são os mais tóxicos. Assim, dos 210 congéneres de PCDD/FS que existem, apenas 7 de PCDDs e 10 de PCDFs reúnem esta condição, pelo que, os restantes 193 congéneres são considerados como tendo uma toxicidade desprezável (o seu valor de TEF é definido como sendo zero).

Por outro lado, relativamente aos PCBs com atividade de dioxina, verifica-se que dos 209 congéneres, os que apresentam uma configuração plana são os que possuem maior toxicidade, exibindo mecanismos de ação semelhantes aos dos PCDD/Fs. Verifica-se portanto, que os congéneres de PCBs que apresentam uma configuração planar pertencem a três classes distintas de PCBs (*non-orto*, *mono-orto* e *di-orto*). Assim, existem apenas alguns são PCBs que são *non-orto*, *mono-orto* e *di-orto*, sendo que apenas 12 são considerados pela OMS como tendo toxicidade similar à dos congéneres de PCDD/Fs. Tal como já se verificou, em parte essa toxicidade deve-se à estrutura das suas moléculas, que é bastante semelhante à dos isómeros dos congéneres de PCDD/Fs, substituídos nas posições 2,3,7,8.

Assim, de agora em diante, o foco das atenções recairá sobre os 17 congêneres de PCDD/Fs e os 12 de PCBs com atividade de dioxina. De um modo geral, pode afirmar-se, que a toxicidade dos congêneres de PCDD/Fs diminui com o aumento do grau de cloração. Todavia, o mesmo não pode ser extrapolado para caso dos PCBs, uma vez, que o congénere mais tóxico corresponde a um penta PCB, nomeadamente o PCB IUPAC # 126.

Salienta-se também, que existem diferentes Fatores de Equivalência de Toxicidade (TEF) propostos por distintos organismos. Estes diferenciam-se sobretudo no sistema de ponderação que aplicam a cada congénere. No âmbito desta Tese Doutoral, referiremos os TEF avaliados pelos dois principais organismos de índole internacional, designadamente:

1. Os Fatores de Equivalência de Toxicidade Internacionais (I-TEF) ou da Organização do Tratado do Atlântico Norte/Comité sobre os Desafios das sociedades Modernas (NATO/CCMS). *Pilot Study on international information Exchange on dioxin and related compounds, Report N.º 176, 1988* [33];
2. Os Fatores de equivalência de toxicidade da Organização Mundial de Saúde (OMS-TEF). Avaliação para o risco humano baseado nas conclusões da reunião da Organização Mundial de Saúde realizada em Estocolmo, Suécia, 15 a 18 de Junho de 1997 – Van den Berg et al., (1998). *Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and Wildlife*, bem como a subsequente revisão, efetuada em 2005 [48,49].

Na tabela 2.12, apresentam-se os respetivos valores de TEF, propostos pelos organismos anteriormente referidos.

Tabela 2.12. – Fatores de Equivalência de Toxicidade (TEF) propostos por diferentes organismos. [33,48,49]

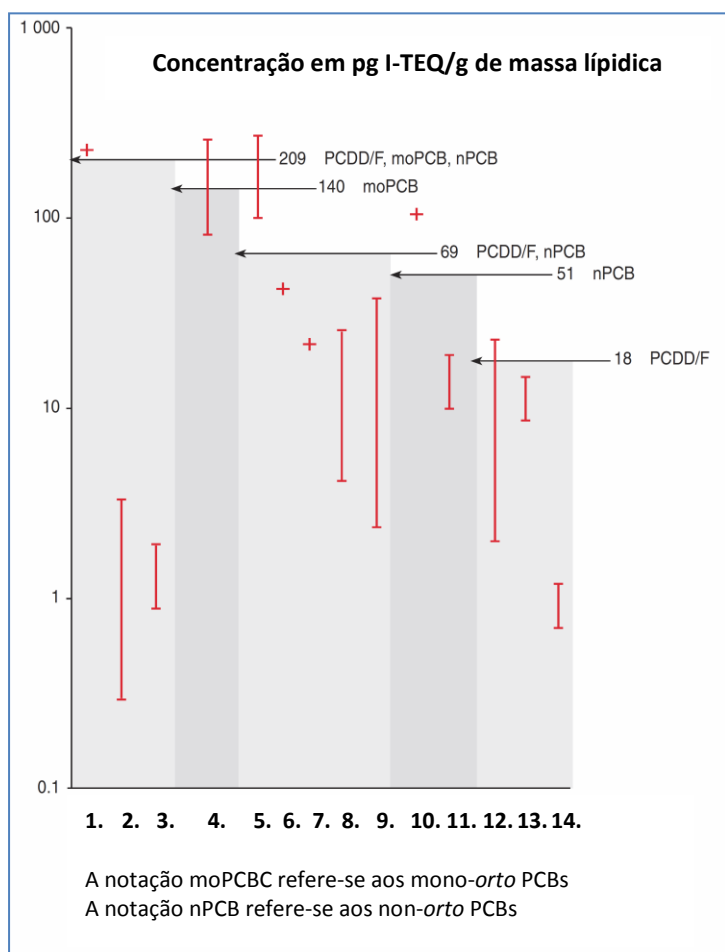
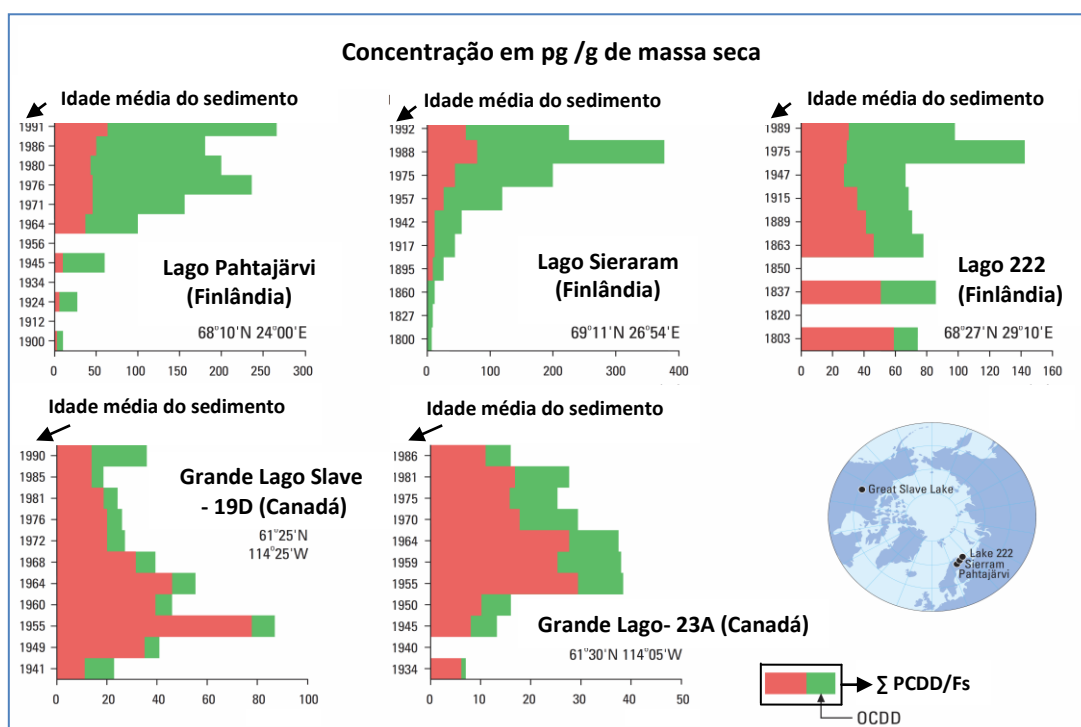
^{a)} Valores de TEF propostos pela Organização do Tratado do Atlântico Norte/Comité sobre os Desafios das sociedades Modernas (NATO/CCMS). ^{b)} Valores de TEF propostos pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

GRUPO DE CONGÉNERE	NOME DO CONGÉNERE		I-TEF (1988) ^{a)}	OMS-TEF (1998) ^{b)}	OMS-TEF (2005) ^{b)} REVISÃO
PCDFs	1	2,3,7,8-TCDF	0,1	0,1	0,1
	2	1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	0,05	0,03
	3	2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	0,5	0,3
	4	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	0,1	0,1
	5	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	0,1	0,1
	6	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	0,1	0,1
	7	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	0,1	0,1
	8	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	0,01	0,01
	9	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01	0,01	0,01
	10	OCDF	0,001	0,0001	0,0003
PCDDs	1	2,3,7,8-TCDD	1,0	1,0	1,0
	2	1,2,3,7,8-PeCDD	0,5	1,0	1,0
	3	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	0,1	0,1
	4	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	0,1	0,1
	5	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	0,1	0,1
	6	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	0,01	0,01
	7	OCDD	0,001	0,0001	0,0003
GRUPO DE CONGÉNERE	NOME DO CONGÉNERE		I-TEF (1988) [*]	OMS-TEF (1998) ⁺	OMS-TEF (2005) ⁺ REVISÃO
PCBs non-orto	1	3,4,4',5-TCB (IUPAC #81)	-	0,0001	0,0003
	2	3,3',4,4'-TCB (IUPAC #77)	0,0005	0,0001	0,0001
	3	3,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #126)	0,1	0,1	0,1
	4	3,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #169)	0,01	0,01	0,03
PCBs mono-orto	5	2,3,3',4,4',-PeCB (IUPAC #105)	0,0001	0,0001	0,00003
	6	2,3,4,4',5-PeCB (IUPAC #114)	0,0005	0,00005	0,00003
	7	2,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #118)	0,0001	0,0001	0,00003
	8	2',3,4,4',5-PeCB (IUPAC #123)	0,0001	0,0001	0,00003
	9	2,3,3',4,4',5-HxCB (IUPAC #156)	0,0005	0,0005	0,00003
	10	2,3,3',4,4',5'-HxCB (IUPAC #157)	0,0005	0,0005	0,00003
	11	2,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #167)	0,00001	0,00001	0,00003
	12	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (IUPAC #189)	0,0001	0,0001	0,00003
PCBs di-orto	13	2,2',3,3',4,4',5-HpCB (IUPAC #170)	0,0001	-	-
	14	2,2',3,4,4',5,5'-HpCB (IUPAC #180)	0,00001	-	-

2.3. IMPORTÂNCIA AMBIENTAL DOS PCDD/Fs E PCBs

Tal como se afirmou, desde 1940 que se tem verificado um crescente incremento nos níveis de concentração de alguns compostos organoclorados nos diferentes sistemas ambientais, tais como, os PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Este facto tem gerado preocupação nas autoridades e organismos que têm por missão levar a cabo ações de monitorização ou estudo do ambiente, em particular a partir de 1970. Por outro lado, pelo facto destes compostos apresentarem características, tais como, a persistência, a bioacumulação e a toxicidade, o problema ambiental é ampliado, pois verifica-se que estas características proporcionam a sua distribuição por vastas áreas do planeta, mediante a ação de diversos processos de transporte.

Assim, sabe-se hoje que estes compostos estão presentes em áreas muito distantes das suas fontes de origem e nos diversos sistemas ambientais. A figura 2.33 apresenta a evolução destas substâncias em alguns sistemas ambientais, bem como os seus níveis de concentração em várias regiões do globo.



1. Urso Polar (Canadá)
2. Caribou (Canadá)
3. Rena (Suécia)
4. Urso Polar (Svalbard, Noruega)
5. Outros
6. Morsa (Inukjuac, Canadá)
7. Morsa (Akulivik, Canadá)
8. Beluga
9. Foca
10. Morsa (Inukjuac, Canadá)
11. Narval
12. Urso Polar (Canadá)
13. Rena (Jarfjord, Noruega)
14. Rena (Stila, Noruega)

Figura 2.33. – Níveis de congêneres de PCDD/Fs detetados em várias regiões do globo (sedimentos e animais das regiões árticas). [50,51]

Contudo, verifica-se que os níveis de congéneres de PCDD/Fs e PCBs têm diminuído em alguns sistemas ambientais desde meados da década de 1970, altura em que se iniciou a proibição do uso de PCBs nos países desenvolvidos. A figura 2.34 ilustra o que se acabou de enunciar, reportando a evolução da concentração de congéneres de PCDD/Fs e PCBs, desde o ano de 1968, em amostras de mexilhões da espécie *Esosx lucius*, recolhidas no lago Storvindeln Pike (Suécia).

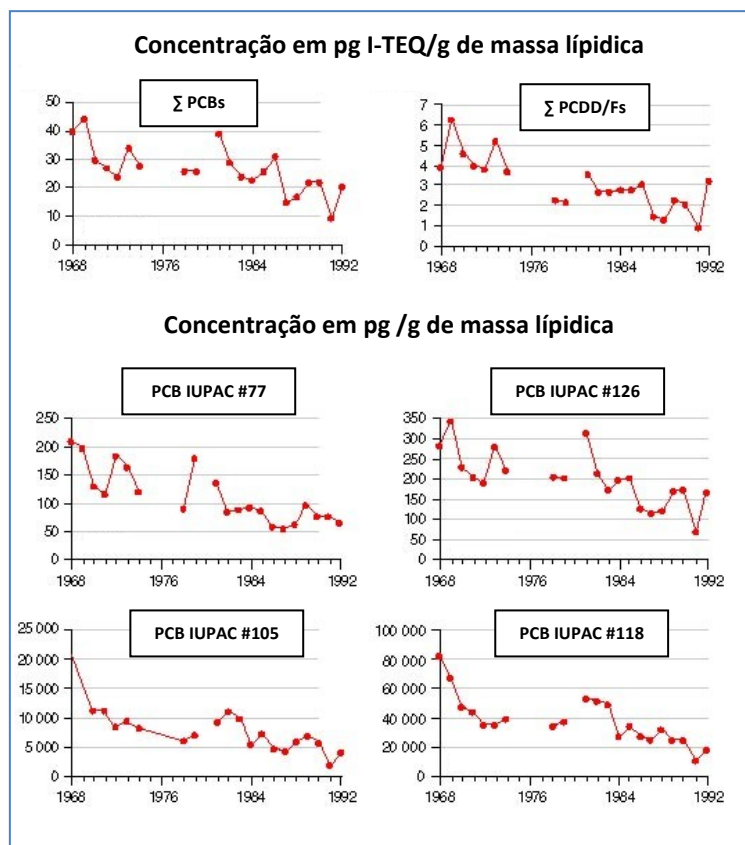


Figura 2.34. – Níveis de PCDD/Fs e PCBs em mexilhões da espécie *Esosx lucius*, colhidos no lago Storvindeln Pike (Suécia). [52]

2.3.1. A EXPOSIÇÃO HUMANA A PCDD/Fs E PCBs

Um aspeto importante a considerar no que respeita à exposição a estas substâncias é a sua via de entrada no organismo dos seres vivos. No geral, existem três vias distintas para a assimilação destes poluentes pelos seres vivos:

- A ingestão oral (em particular, através de alimentos e bebidas);
- A inalação (por exemplo, através da respiração de ar/partículas contaminadas);
- O contacto dérmico (nomeadamente, através de exposições acidentais a produtos contaminados).

Tal como referido, os efeitos da exposição aos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina são diversos, sendo que eles variam em função de fatores, tal como, o nível de exposição (ou

seja, a concentração das substâncias no meio). Assim, na figura 2.35, apresenta-se uma relação simples e direta entre os efeitos provocados e o nível de exposição a estes poluentes.

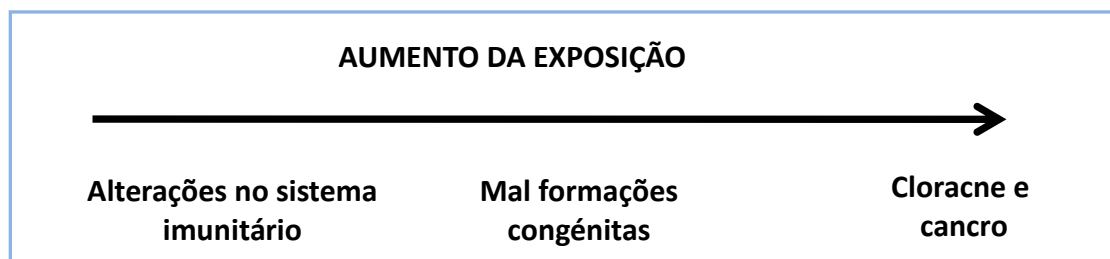


Figura 2.35. – Variação dos efeitos relativos à exposição a PCDD/Fs e PCBs.

A análise da figura 2.35 permite constatar, que as alterações no sistema imunitário são alguns dos primeiros efeitos que resultam da exposição, sendo que os efeitos mais adversos passam pelo desenvolvimento de cancro e o Cloracne. Verifica-se contudo, que a severidade, e em menor grau também o tipo de efeito resultante da exposição, dependem sobretudo da via de entrada destas substâncias no organismo dos seres vivos.

2.3.1.1. A INGESTÃO

Considerando o caso dos seres humanos em particular, verifica-se que a exposição a estas substâncias é fortemente condicionada pela ingestão de alimentos contaminados. A ingestão oral assume portanto um papel preponderante contribuindo com cerca de 90 a 95% do valor de toda a carga de PCDD/Fs assimilada [6]. Uma vez que os congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina são lipossolúveis e de difícil degradação, estes tendem a acumular-se no topo da cadeia alimentar, em especial nos alimentos ricos em gorduras, tais como, a carne de vaca, o leite, a carne de porco, os ovos e outros. Na tabela 2.13, apresentam-se os níveis de congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina detetados em diferentes amostras de alimentos dos EUA.

Tabela 2.13. – Teor de PCDD/Fs e PCBs em diferentes tipos de alimentos comercializados nos EUA. [53]

A sigla NQ corresponde a parâmetro não quantificado durante o ensaio, isto é, o valor de concentração obtido pela análise foi inferior ao limite de quantificação do método (LQ). Na tabela existem dois tipos de valores de concentração, respetivamente os Limites Inferiores de Concentração – LIC (sempre que a concentração do congénere é inferior ao limite de deteção do método considera-se que o seu valor de concentração na amostra é zero, isto é, ND = 0) e os Limites Superiores de Concentração - LSC (sempre que quando a concentração do congénere é inferior ao limite de deteção do método considera-se que o seu valor de concentração na amostra é metade do respetivo limite de deteção, ND = ½ LD). ^{a)} Valor corrigido pelo fator 1,08 para compensar a ausência de dados. ^{b)} Valor corrigido pelo facto 1,08 para compensar a ausência de dados. ^{c)} O valor real pode ser maior.

	CARNE				PEIXE		LACTICÍNIOS			Ovos	Vegetais	Leite humano
	Bife de vaca	Galinha	Porco	Salchichas	Peixe de oceano	Peixe de água doce	Manteiga	Queijo	Gelado			
Percentagem Lipídica (%)	13,1	5,3	9,2	28,6	1,4	4,8	89,1	21,8	2,15	14,7	2,7	3,70
CONGÉNERES	Concentração em ng OMS-TEQ/kg peso fresco (OMS TEF 1998)											
PCDDs	0,189	0,097	0,124	0,165	0,115	0,472	0,467	0,218	0,079	0,125	0,047	0,257
PCDFs	0,083	0,107	0,111	0,130	0,083	0,338	0,195	0,123	0,052	0,184	0,031	0,089
Σ PCDDs+PCDFs	0,272	0,204	0,234	0,294	0,198	0,810	0,662	0,341	0,131	0,307	0,078	0,346
PCBs non-orto	0,041	0,040	0,070	0,072	0,086	0,619	0,340	0,105	0,017	0,029	0,007	0,075
PCBs mono-orto	0,084	0,090	0,088	0,146	0,106	0,297	0,114	0,024	NQ	0,006	0,002	-
Σ PCBs	0,125	0,130	0,158	0,218	0,192	0,916	0,455	0,129	-	0,036	0,008	-
TOTAL TEQ (LSC) (ND=1/2 LD)	0,397	0,334	0,392	0,512	0,390	1,726	1,117	0,470	0,160 ^{a)}	0,343	0,086	0,420 ^{c)}
TOTAL TEQ (LIC) (ND=0)	0,163	0,141	0,121	0,304	0,164	1,578	0,823	0,173	0,022 ^{b)}	0,072	0,008	0,417 ^{c)}

A tabela 2.13 mostra, que se verifica uma tendência entre o decréscimo dos níveis de PCDD/Fs e PCBs e a percentagem lipídica do respetivo alimento, ou seja regra geral, quanto maior é a percentagem de lípidos de um alimento maior é o seu nível de concentração em PCDD/Fs e PCBs (excluindo o caso do peixe de água doce). Este facto não será de estranhar, uma vez que sendo estas substâncias bastante lipofílicas, elas apresentam valores de log Kow relativamente elevados (ou seja, superiores a quatro). Verifica-se portanto, e em consonância com o que foi referido, que os vegetais estão entre os alimentos, nos quais, os níveis de concentração de PCDD/Fs e PCBs são menores (consequência de uma reduzida massa lipídica). A tabela 2.13 permite ainda constatar, que os níveis de congénere de PCDD/Fs e PCBs de alguns alimentos oscilam entre 0,008 ng OMS-TEQ/kg (vegetais) e 1,578 ng OMS-TEQ/kg (peixe de água doce), no que respeita aos limites inferiores, e entre 0,086 ng OMS-TEQ/kg (vegetais) e 1,726 ng OMS-TEQ/kg (peixe de água doce), no que respeita aos limites superiores

Relativamente a Portugal, verifica-se que já existem alguns dados disponíveis que permitem avaliar os níveis destas substâncias nos alimentos que são comercializados. Na tabela 2.14, apresentam-se os valores de concentração em I-TEQ para alguns alimentos disponibilizados ao público.

Tabela 2.14.— Teor de PCDD/Fs e PCBs em alimentos comercializados em Portugal.

Na tabela existem dois valores de concentração, respetivamente os Limites Inferiores de Concentração – LIC (sempre que a concentração do congénere é inferior ao limite de quantificação do método considera-se que o seu valor de concentração na amostra é zero) e os Limites Superiores de Concentração – LSC (sempre que a concentração do congénere for inferior ao limite de quantificação do método considera-se que o seu valor de concentração na amostra é idêntico ao valor do limite de quantificação). Assim salienta-se, que relativamente à definição de limites superiores e inferiores de concentração, nesta tabela foram utilizadas as recomendações do Regulamento (CE) N.º 1881/2006, da Comissão de 19 de Dezembro de 2006, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. Tal como o leitor pode constatar, a diferença entre a definição de limites inferiores e superiores de concentração desta tabela, por comparação com a tabela 2.13, consiste no facto de nesta ser utilizado o limite de quantificação do método, enquanto que na anterior se utiliza limite de deteção.

CONGÉNERES	Concentração em ng OMS-TEQ/kg peso fresco (OMS TEF 1998)					
	Enguia	Raia	Safio	Carne Bovina	Ovos de Galinha	Pão de Alho
PCDDs	0,80	0,84	0,46	0,53	1,5	0,53
PCDFs	0,50	0,50	0,35	0,31	0,95	0,35
Σ PCDDs + PCDFs	1,29	1,41	0,81	0,84	2,5	0,87
PCBs non-orto	2,9	0,89	4,4	0,22	2,4	0,07
PCBs mono-orto	1,2	0,12	0,78	0,03	0,002	0,008
Σ PCBs	4,1	1,01	5,2	0,24	2,4	0,08
TOTAL TEQ (LSC) (ND= LQ)	5,4	2,4	6,0	1,1	4,8	0,95
TOTAL TEQ (LIC) (ND=0)	4,8	1,1	5,2	0,03	2,5	0,08

Comparando os valores das tabelas 2.13 e 2.14, verifica-se que embora no global os valores das amostras recolhidas em Portugal sejam um pouco superiores, os resultados são relativamente concordantes.

Na tabela 2.15 apresentam-se mais resultados sobre os níveis destas substâncias em alimentos. Salienta-se que estes valores foram obtidos através da consulta de literatura científica, sendo que os teores das amostras são apresentados no sistema internacional (em I-TEQ).

Tabela 2.15. – Teor de PCDD/Fs em diferentes tipos de alimentos. [6]

ALIMENTO	VALORES DE CONCENTRAÇÃO	AUTORES DO ESTUDO
Batatas	0,04 ng I-TEQ/kg	HMSO
Peixe	ND - 85 ng I-TEQ/kg	Travis et al.
	18,1 - 43,4 ng I-TEQ/kg gordura	Beck et al.
	0,48 ng I-TEQ/kg	HMSO
Carne	0,2 – 1,66 ng I-TEQ/kg gordura	Beck et al.
	0,68 ng I-TEQ/kg	HMSO
Frango	0,33 ng I-TEQ/kg	HMSO
Ovos	1,07 ng I-TEQ/kg	Beck et al.
	0,19 ng I-TEQ/kg	HMSO
Azeite vegetal	0,65 ng I-TEQ/kg	HMSO
Hortícolas/vegetais	0,02 ng I-TEQ/kg	HMSO
Fruta	0,05 ng I-TEQ/kg gordura	HMSO

Tendo em atenção os dados anteriores, e considerando o caso de uma alimentação típica de Portugal, constituída por sete grupos de alimentos com as proporções seguintes [54]:

1. Cereais e derivados e tubérculos (28% em massa);
2. Hortícolas (23% em massa);
3. Fruta (20 % em massa);
4. Lacticínios (18% em massa);
5. Carnes, peixes e ovos (5% em massa);
6. Leguminosas (4% em massa);
7. Gorduras e óleos (2% em massa).

Considerando também, que cada um destes grupos de alimentos apresenta funções e caraterísticas nutricionais específicas, pelo que, todos eles devem estar presentes na alimentação diária, não devendo ser substituídos entre si.

Verificando ainda, relativamente à água, que embora esta não possua um grupo específico está representada nos sete, uma vez, que todos os alimentos, em maior ou menor grau, possuem água na sua constituição.

Assim, face ao exposto e atendendo a todas as considerações enunciadas, verifica-se que o teor de congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, que resulta da ingestão humana de alimentos, pode assumir os valores da tabela 2.16.

Tabela 2.16. – Consumo diário de alimentos em Portugal e estimativa de PCDD/Fs assimilado.

^{a)} Valores retirados da tabela 2.15. ^{b)} valores retirados da tabela 2.13 (no caso dos laticínios corresponde à média da manteiga, queijo e gelado). ^{c)} Valores retirados da tabela 2.14 (média dos peixes, a carne bovina e os ovos). ^{d)} Nestes cálculos utilizaram-se os valores dos Limites Inferiores de Concentração para cada alimento. Salienta-se ainda, que optou-se por utilizar simplesmente a notação TEQ, pois os dados das tabelas 2.13, 2.14 e 2.15 não são apresentados todos no mesmo sistema de TEF. Neste sentido refere-se, que para o propósito da comparação não é significativamente relevante a diferença de sistemas, uma vez, que os TEF atribuídos pelos distintos organismos não são muito discrepantes (tabela 2.12).

GRUPO DE ALIMENTO	Consumo diário equivalente ^[54] (g)	Níveis de PCDD/Fs e PCBs [ng TEQ/kg peso fresco]	Total assimilado ^{d)} [ng TEQ/kg alimento]
Cereais/derivados/tubérculos	460 (cerca de 7 porções)	0,04 ^{a)}	0,018
Hortícolas	380 (cerca 2,5 porções)	0,02 ^{a)}	0,0076
Fruta	330 (cerca de 2 porções)	0,008 ^{b)}	0,003
Laticínios	300 (cerca de 2 porções)	0,339 ^{b)}	0,102
Carnes/peixes/ovos	80 (cerca de 2 porções)	2,73 ^{c)}	0,218
Leguminosas	70 (cerca de 1 porção)	0,02 ^{a)}	0,0014
Gorduras/óleos	30 (cerca de 2 porções)	0,65 ^{a)}	0,020
TOTAL	1650	3,9	0,370

Assim, de acordo com os dados da tabela 2.15, para uma pessoa normal cujo peso médio corresponde a 70 kg (no caso dos homens) e 55 kg (no caso dos mulheres), verifica-se que a dose diária assimilada com essa dieta corresponde a 5,3 pg TEQ/kg massa corporal/dia para os homens (respetivamente, 0,370 ng TEQ/70 kg) e 6,7 pg TEQ/kg massa corporal/dia para as mulheres (respetivamente, 0,370 ng I-TEQ/55 kg).

Em 2002, a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO – *Food and Agriculture Organization*) e o Comité Conjunto de Peritos em Aditivos Alimentares da Organização das Nações Unidas (JECFA – *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*), estabeleceram o valor provisório tolerável para a assimilação diária em 70 pg OMS-TEQ/kg massa corporal/mês, para os congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina (de agora em diante utilizar-se-á a sigla m.c. para designar massa corporal) [55]. Tal como referido na tabela 2.16, embora os resultados apresentados sobre os teores de congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina estejam em TEQ e o valor estabelecido pela OMS esteja em OMS-TEQ, para o propósito da comparação, não é relevante a diferença de sistemas, dado que os TEF atribuídos pelos distintos organismos não são significativamente diferentes (tabela 2.12). Assim, é comum aparecer na literatura científica apenas a menção a TEQ quando se pretende aferir a dose diária tolerável, podendo não se discriminar portanto, qual é o tipo de sistema que está a ser utilizado. Deste modo, verifica-se que os valores de assimilação mensal de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, que foram determinados com base neste estudo, são para o caso dos homens e mulheres, respetivamente 158 pg TEQ/kg m.c./mês e 202 pg TEQ/kg m.c./mês (assumindo no cálculo a condição da referida dieta). Constata-se então, que estes valores superam o máximo recomendado pela OMS, pelo que, é importante efetuar novos estudos sobre o teor destes contaminantes nos alimentos comercializados em Portugal, por forma, a permitir esclarecer com maior detalhe os verdadeiros níveis de concentração/assimilação.

2.3.1.2. A INALAÇÃO

A inalação de ar/partículas de pó contaminadas é outra forma de assimilação de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Assim, verifica-se que esta via pode contribuir com cerca de 5 a 10% da carga total assimilada.

Tal como se referiu, uma das principais fontes de produção de congéneres de PCDD/Fs são os processos térmicos, pelo que, a assimilação destas substâncias via inalação de ar/partículas de pó contaminadas pode assumir alguma relevância, em particular, nas áreas próximas de grandes unidades industriais.

Uma boa forma de conhecer melhor os riscos inerentes à assimilação de PCDD/Fs e PCBs pelas vias aéreas consiste em realizar inventários nacionais. Assim, verifica-se que já existem diversos inventários sobre as emissões destes poluentes em vários países da UE. Embora em Portugal os dados ainda sejam escassos, já é possível encontrar estimativas dos valores de congéneres de PCDD/Fs e PCBs que são emitidos anualmente.

Na figura 2.36 apresentam-se os resultados estimados para as emissões de congéneres de PCDD/Fs e PCBs, em Portugal, durante o período de 1990 a 2009.

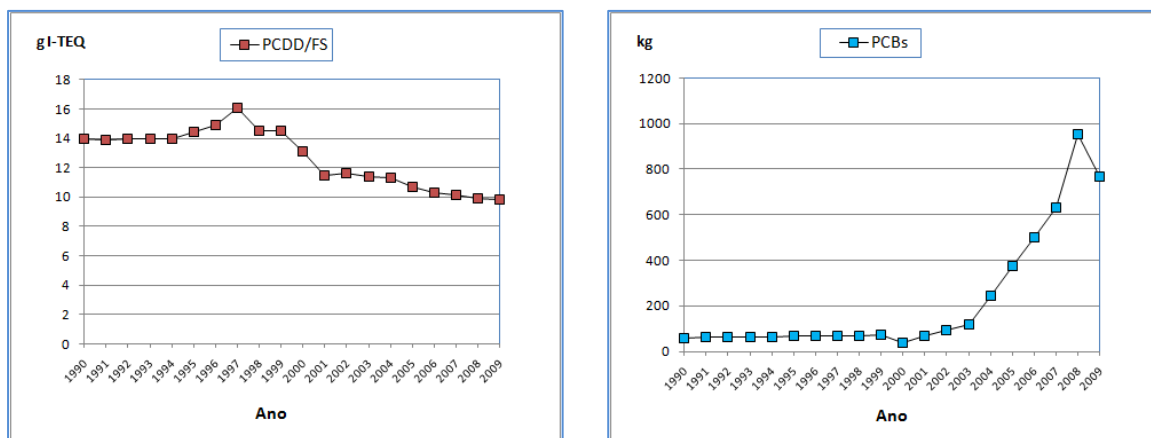


Figura 2.36. – Valores estimados das emissões de PCDD/Fs e PCBs em Portugal, durante o período de 1990 a 2009. [56]

Os valores apresentados na figura 2.36 são os que se reportam no Inventário Nacional de Emissões de Poluentes Atmosféricos e, que resultam das obrigações de Portugal, no âmbito Convenção sobre Poluição Atmosférica Transfronteiriça de Longo Alcance (CLRTAP - *Convention on Long-range Transboundary Air Pollution*). Em termos gerais, a metodologia aplicada para o cálculo da estimativa das emissões apresentadas na figura 2.36, baseia-se na multiplicação de um fator de emissão de referência, obtido através de consulta bibliográfica, por um valor de atividade característica do funcionamento da fonte/indústria em causa. Salienta-se também, que as estimativas da figura 2.36 têm por base os dados recolhidos nos seguintes setores de atividade:

1. Produção Pública de Eletricidade e Calor;
2. Combustão na Indústria do Ferro e Aço;
3. Combustão na Indústria dos Metais não-Ferrosos;
4. Combustão na Indústria Química;
5. Combustão na Indústria da Pasta, Papel e Impressões;
6. Combustão na Indústria de Processamento de Alimentos, Bebidas e Tabaco;
7. Setor Ferroviário;
8. Setor Marítimo;
9. Combustão Comercial e Institucional;
10. Combustão Residencial;
11. Combustão na Agricultura, Floresta e Pescas;
12. Deposição de Resíduos Sólidos em Terra;
13. Incineração de Resíduos.

Finalmente refere-se, que os dados apresentados devem ser encarados com prudência, atendendo à elevada incerteza associada a qualquer primeira estimativa de emissões. Por outro lado, existe também a necessidade de melhorar a informação de base que está disponível, bem como a metodologia aplicada nas estimativas. Deste modo, por forma a minorar as incertezas foram recolhidas informações em diversas fontes de literatura científica internacional, nomeadamente:

- AP-42 (USEPA, 1996; USEPA, 1996b; USEPA, 1998; USEPA, 1998b; USEPA, 1998c);
- EMEP/CORINAIR Emission Factor Handbook (EEA, 2002);
- Stockholm Convention Toolkit (UNEP) for Dioxins/Furan and PAH.

Relativamente aos dados apresentados na figura 2.36, constata-se os níveis estimados de PCDD/Fs têm vindo a diminuir, tendo-se registado um valor máximo de emissão no ano de 1997 (valor registado 16,1 g I-TEQ). No que respeita aos PCBs (este grupo contempla também os PCBs com atividade de dioxina para além dos PCBs usuais), verifica-se que contrariamente ao que sucede com os congéneres de PCDD/Fs, os seus níveis têm registado um aumento. Neste caso, deve ter-se em atenção que até ao ano de 1998, apenas foram incluídas nas estimativas as emissões hospitalares, tendo a partir de 1999, sido também incluídas as estimativas referentes aos restantes setores de atividade referidos. Assim, verifica-se que o aumento dos níveis de PCBs emitidos não resulta de um real e significativo incremento da sua emissão, mas sim da inclusão de dados estimados por outros setores de atividades.

No que respeita às estimativas de emissão atmosférica dos congéneres de PCDD/Fs em Portugal por sector de atividade, verifica-se o seguinte.

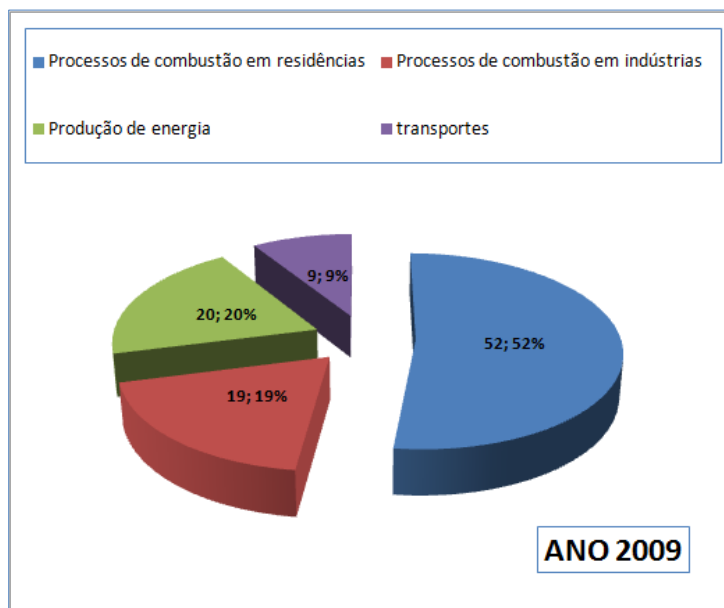


Figura 2.37. – Emissões atmosféricas PCDD/Fs em Portugal por setor de atividade, durante o ano de 2009. [56]

Verifica-se portanto, que segundo alguns estudos, os níveis de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina no ar atmosférico podem oscilar entre 0,1 a 2 pg I-TEQ/m³ de ar [6]. Se considerarmos o caso das zonas próximas de fontes de emissão, os valores podem ainda ser superiores, podendo alcançar níveis de 200 pg I-TEQ/m³. Neste sentido, e assumindo que um ser humano inala em média 20 m³ de ar por dia, verifica-se que a inalação diária de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, pode oscilar entre 2 e 40 pg I-TEQ/dia. Considerando os pesos médios anteriormente referidos (70 kg no caso dos homens e 55 kg para as mulheres), verifica-se que a dose diária assimilada, via processo de inalação, pode variar entre 0,03 e 0,57 pg I-TEQ/m.c./dia para os homens e entre 0,04 e 0,73 pg I-TEQ/m.c./dia para as mulheres. Com base no referido pela FAO e pelo JECFA, que estabeleceram o valor provisório tolerável para a assimilação diária em 70 pg OMS-TEQ/kg m.c./mês, para os congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina [55]. E convertendo os valores determinados para a unidade de um mês, verifica-se que os respetivos valores, variam entre 0,9 e 17 pg I-TEQ/m.c./mês para os homens e entre 1,1 e 22 pg I-TEQ/m.c./mês para as mulheres. Assim, tal como anteriormente referido, embora os resultados apresentados sobre os teores de congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina estejam em I-TEQ e o valor estabelecido pela OMS esteja em OMS-TEQ, para o propósito da comparação, não é relevante a diferença de sistemas, dado que, os TEF atribuídos pelos distintos organismos não são significativamente diferentes (valores apresentados na tabela 2.12). Constata-se portanto, que os valores estimados para a exposição via inalação, podem representar no seu máximo respetivamente 24 e 31% do valor recomendado pela OMS, sendo que em áreas próximas de importantes fontes de emissão, os valores podem mesmo alcançar ou ultrapassar o valor de referência. Deste modo, novos estudos sobre o teor destes contaminantes no ar atmosférico, bem como nas emissões de importantes unidades industriais são recomendáveis, por forma, a permitir esclarecer com maior detalhe os verdadeiros níveis de assimilação diária e mensal destes poluentes em Portugal, via processo de inalação.

2.3.1.3. O CONTACTO DÉRMICO

Finalmente o contacto dérmico, este é regra geral, um meio de assimilação negligenciável que apenas acontece através de exposições acidentais, tais como, a manipulação de produtos contaminados. Ainda assim, quando ocorrem situações de exposição acidental, é possível assimilar elevadas cargas PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina por esta via. Por exemplo, os sistemas ambientais contaminados, tais como, o solo podem também contribuir para a assimilação humana via contacto dérmico. Nestas circunstâncias, é de louvar a ação de alguns países que têm vindo a adotar medidas importantes na minimização do risco. A título de exemplo salienta-se a atitude de Alemanha, que desde 1999 que vem adotando legislação no sentido de impor valores limite que restrinjam certas utilizações para os solos contaminados com PCDD/Fs (*Federal Soil Protection Act*) [57]. Na tabela 2.17, apresentam-se os valores máximos relativos aos congéneres de PCDD/Fs, que podem implicar restrições de utilização dos solos na Alemanha.

Tabela 2.17. – Tipo de uso recomendado para solos contaminados com PCDD/Fs na Alemanha. [6 e 57].

Concentração de PCDD/Fs em solos (ng I-TEQ/kg de massa seca)	Tipo de uso recomendado para o solo
<5	Valor ótimo, solo indicado para qualquer uso.
5 a 40	Utilização agrícola sem restrições. Pode também ser utilizado como zona de pasto, mas recomenda-se o controlo dos níveis de PCDD/Fs na carne desses animais que é destinada à alimentação.
>40	Utilização agrícola restringida, em geral, estes solos apenas devem ser utilizados no cultivo de plantas não comestíveis e não utilizadas como pasto.
>100	Eliminação e limpeza do solo quando este se situar em locais como pátios de escolas, parques e etc.
>1000	Eliminação e limpeza do solo.

Chegado este ponto importa agora abordar o tema da determinação da dose diária recomendada para a assimilação humana destas substâncias. Anteriormente já verificámos, que em 2002, o FAO e o JECFA estabeleceram o valor provisório tolerável para a assimilação diária em 70 pg OMS-TEQ/kg massa corporal/mês, para os congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Contudo, existem outros estudos que avaliam a dose diária tolerada. É precisamente esse tópico que irá ser abordado em seguida.

2.3.1.4. DETERMINAÇÃO DA DOSE DIÁRIA TOLERADA (TDI)

Devido à elevada toxicidade dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina foram efetuados diversos estudos para avaliar a dose diária tolerada [47]. Desde cedo se verificou, que a 2,3,7,8-TCDD, é uma substância extremamente tóxica (talvez a substância mais tóxica já sintetizada pelo homem), sendo que logo após a primeira síntese, os químicos envolvidos sofreram sintomas de envenenamento.

Estudos realizados com cobaias, às quais foi administrada oralmente o congénere 2,3,7,8-TCDD, mostraram que a LD₅₀ é somente de 0,6 µg/kg m.c. para a espécie do Porco da Guiné (Sparschu et al., 1971) [6,7]. A tabela 2.18 apresenta as dosagens e os respetivos efeitos da administração oral do congénere de 2,3,7,8-TCDD a diferentes espécies de animais.

Tabela 2.18.– Efeitos provocados em cobaias derivados da administração oral do congénere de 2,3,7,8-TCDD. [7]

EFEITO (administração por via oral da dosagem referida na coluna 3)	TIPO DE COBAIA	DOSE ADMINISTRADA
Efeito letal ou LD ₅₀	Porco da Guiné	0,6 a 19 µg/kg m.c.
	Rato	10 a 340 µg/kg m.c.
	Macaco Rhesus	70 µg/kg m.c.
	Cão	500 µg/kg m.c.
	Hamster	1157 a 5050 µg/kg m.c.
Desenvolvimento de imunodeficiência	Porco da Guiné	0,04 µg/kg m.c./semana
	Rato	0,1 µg/kg m.c./semana
Teratogenicidade	Rato	0,001 µg/kg m.c./dia
Carcinogenicidade	Rato	0,01 µg/kg m.c./dia
Genotoxicidade	Diversos testes <i>in vitro</i>	Inativa no global

A análise da tabela 2.18 permite concluir, que as dosagens para provocar efeitos agravados são relativamente pequenas. Assim, por forma a avaliar o risco relativo à exposição dos seres humanos a estas substâncias, foi desenvolvido o conceito de Dose Diária Tolerada (TDI – *Tolerable Daily Intake*). Utilizando este conceito é possível estabelecer valores de segurança mínimos, que sendo respeitados, mantêm a exposição dos seres humanos em níveis que não prejudicam substancialmente a sua saúde. Em certo sentido, a TDI expressa a quantidade máxima em equivalentes tóxicos (TEQ), que o organismo humano pode assimilar, sem que isso represente um efeito adverso ou risco de perigo para a saúde do indivíduo.

Para determinar o valor de TDI é importante obter dados científicos que permitam avaliar com rigor, quais os efeitos adversos da exposição dos seres humanos a diferentes dosagens destas substâncias.

Como será de esperar, estes estudos, apenas podem ser realizados em situações acidentais, nas quais, a origem da exposição foi não intencional. Isto porque, atualmente, não é moral nem juridicamente permitido, sujeitar seres humanos a exposições intencionais de substâncias que possam colocar em perigo a sua saúde. Contudo e infelizmente, têm-se registado vários acidentes, nos quais, ocorreu exposição a humana a este tipo de substâncias, pelo que estudando as populações expostas é possível avaliar os efeitos produzidos. Convém no entanto ressaltar, que embora nos casos de acidentes a dosagem de exposição seja difícil de aferir, é possível estimá-la e obter valores aproximados.

Assim, resulta desde logo, que a variabilidade dos resultados pode ser bastante elevada, uma vez, que os valores de TDI são determinados através de estudos, nos quais se expõem animais vivos a diferentes dosagens destas substâncias. Em particular, o que foi referido é mais significativo, no que respeita à aferição da quantidade do congénere de 2,3,7,8-TCDD que é necessária administrar, para se obter os mesmos efeitos em diferentes espécies de seres vivos. Deste modo, não obstante a moralidade de utilizar animais neste tipo de estudos, verifica-se que os dados obtidos nem sempre são fiáveis, pois a dosagem necessária para provocar certo tipo de sintomas, depende de vários fatores, entre os quais está a espécie do animal, o seu peso e outros. A sensibilidade de diferentes espécies de seres vivos a estas substâncias é também bastante diversa, pelo que, extrapolar os resultados dos estudos para o ser humano não é um processo exatamente rigoroso.

Segundo a OMS a metodologia de avaliação do valor numérico de TDI para os seres humanos baseia-se na determinação da dosagem de exposição mínima que não provoca efeitos adversos, ou seja, na obtenção dos chamados valores NOAEL (*No observed adverse effect level*, ou em Português, Nível Sem Efeitos Adversos Observados)²⁰ ou LOAEL²¹ (*Lowest Observed Adverse Effect Level*, ou em Português, Nível Mínimo Com Efeitos Adversos Observados).

Uma das abordagens empíricas mais comuns, consiste em avaliar o valor de LOAEL de várias espécies de animais, ou seja, determina-se a dose do congénere de 2,3,7,8-TCDD, em termos de massa corporal da cobaia, que é necessário administrar para provocar um determinado efeito suscetível de ser observado nessa espécie de animal (o designado por *body burden*). Nesta abordagem, é usual normalizar os dados através da aplicação de um fator de segurança, por forma, a permitir absorver as possíveis variações observadas de indivíduo para indivíduo. Posteriormente, e para converter os valores em termos de dose de assimilação estimada para os seres humanos, aplica-se a seguinte expressão:

²⁰ O parâmetro NOAEL avalia o nível de exposição de um organismo, obtido através da observação experimental, a partir do qual não existe qualquer alteração biológica estatisticamente significativa ao nível da frequência ou severidade dos efeitos adversos na população exposta, quando se compara esta com o grupo de controlo do estudo. Neste sentido, entende-se como alteração biológica toda e qualquer alteração de nível morfológico, de capacidade funcional, de crescimento, de desenvolvimento ou de duração do tempo de vida da espécie em estudo.

²¹ O parâmetro LOAEL avalia o nível mínimo de concentração de uma substância, obtido através da observação experimental, que produz alterações biológicas estatisticamente significativas ao nível da frequência e severidade dos efeitos adversos na população exposta, quando se compara esta com o grupo de controlo do estudo. Neste sentido, e tal como no caso anterior, entende-se como alteração biológica toda e qualquer alteração de nível morfológico, de capacidade funcional, de crescimento, de desenvolvimento ou de duração do tempo de vida da espécie em estudo.

$$\text{Assimiação (Intake) de 2,3,7,8-TCDD [ng/kg/dia]} = \text{Body Burden [ng/kg]} \times (\text{Ln}(2)/\text{período de meia-vida})/f$$

Figura 2.38. – Equação para determinar a dose diária estimada para os seres humanos [47]

Nesta figura a letra f corresponde à fração de dose absorvida (normalmente, assume-se que tem um valor de 50% para a ingestão de alimentos pelos seres humanos). Relativamente ao período de meia-vida do congénere 2,3,7,8-TCDD, para a aplicação desta equação, considera-se como tendo o valor de 7,5 anos.

Na tabela 2.19, apresentam-se alguns dos valores determinados para a Dose Diária Estimada (EDI – *Estimated Daily Intake*) e os correspondentes efeitos crónicos nos seres humanos (considerando os valores de LOAEL obtidos através da exposição oral de 2,3,7,8-TCDD em diferentes espécies de cobaias).

Tabela 2.19. – Dose Diária Estimada (EDI) para os seres humanos. [47]

AUTOR DO ESTUDO	RESPOSTA EM TERMOS DE LOAEL	DOSE DE 2,3,7,8-TCDD ADMINISTRADA NO PERÍODO MATERNAL (<i>MATERNAL BODY BURDEN</i>) [ng/kg m.c.]	DOSE DIÁRIA ESTIMADA (EDI) DOS SERES HUMANOS CALCULADA PELA APLICAÇÃO DA EQUAÇÃO DA FIG. 2.38 [pg 2,3,7,8-TCDD/kg m.c./dia]
Gray et al. (1997a)	Ratos: diminuição de esperma nos descendentes.	28	14
Gehrs et al. (1997b); Gehrs e Smailowicz (1998)	Desenvolvimento de imunodeficiência nos descendentes	50	25
Gray et al. (1997b)	Aumento das malformações genitais nos descendentes	73	37
Schantz e Bowman (1989)	Macacos: défice no desenvolvimento neurológico nos descendentes (aprendizagem)	42	21
Rier et al. (1993)	Endometriose	42	21

Tal como se pode verificar através da análise da tabela 2.19, os valores de EDI para os seres humanos variam consoante os efeitos produzidos. Assim, para estimar o valor de TDI dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina para os seres humano, é então necessário dispor de dados rigorosos e fiáveis sobre o NOAEL ou LOAEL para diferentes espécies de cobaias. Posteriormente deve-se analisar a espécie de cobaia que foi mais sensível, isto é, aquela em que a resposta tenha sido mais relevante no que respeita aos efeitos adversos. Por exemplo, na tabela 2.19, os valores de EDI oscilam entre os 14 e 37 pg 2,3,7,8-TCDD/kg m.c./dia,

pelo que, estes valores são uma boa base de partida para determinar a TDI dos humanos. Para se obter o valor de TDI de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina nos humanos (em TEQ) é necessário incorporar no cálculo um fator de incerteza que permita o seguinte:

1. Utilizar o LOAEL em vez do NOAEL;
2. Extrapolar para os seres humanos os resultados obtidos para os animais;
3. Corrigir as possíveis oscilações de indivíduo para indivíduo;
4. Corrigir os diferentes períodos de meia-vida para a eliminação de diferentes misturas complexas de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina.

Uma vez que as diferentes espécies de cobaia, referidas na tabela 2.19, foram expostas aos mesmos valores de massa corporal do congénere de 2,3,7,8-TCDD não é necessário utilizar um fator para corrigir diferenças em termos de toxicinética entre espécies. Por outro lado, estudos demonstram que os seres humanos são tão sensíveis a estas substâncias como as outras espécies de animais. Assim, para transformar os valores de LOAEL em NOAEL, apenas se torna necessário considerar como fator de incerteza o valor de 10, ou seja, aplicando este fator à gama de valores de LOAEL da tabela 2.19 (cuja EDI oscila entre os 14 e 37 pg 2,3,7,8-TCDD/kg m.c./dia) obtém-se que a TDI para os seres humanos, em termos do congénere de 2,3,7,8-TCDD, oscilará entre 1,4 e 3,7 pg TEQ/kg m. c./dia. Isto porque, segundo a OMS [47]:

“By applying an uncertainty factor of 10 to the range of LOAELs of 14-37 pg TCDD/kg bw/day a TDI, expressed as a range, of 1 – 4 OMS-TEQ pg/kg bw (rounded figures) was established for dioxins and dioxin-like compounds”.

Assim, e uma vez que a toxicidade dos restantes congéneres é avaliada, tendo como referência o congénere de 2,3,7,8-TCDD, os valores anteriores correspondem portanto ao teor total de congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, suscetíveis de serem assimilados pelos humanos diariamente.

Inicialmente, em 1990, a OMS tinha definido um valor para a TDI de 10 pg OMS-TEQ/kg m. c./dia para o total de congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Em 1998 este valor foi revisto, tendo sido diminuído para 4 pg OMS-TEQ/kg m. c./dia [47]. Assim, atualmente, a OMS recomenda que o valor de 4 pg OMS-TEQ/kg m. c./dia deve ser considerado como provisório, por forma, a manter os níveis de assimilação diários para os seres humanos inferiores à TDI estabelecida. No entanto assume também, que o objetivo último a atingir, deve ser o de colocar o valor de assimilação diário em níveis inferiores a 1 pg OMS-TEQ/ kg m. c./dia.

Esta recomendação ainda não é fácil cumprir, pois vários estudos mostram que em países industrializados, os níveis de assimilação diária de alguns grupos populacionais variam entre de 2 a 6 pg OMS-TEQ/kg m.c./dia. Com base nestes números verifica-se que existe população exposta que está dentro da zona de risco.

Face ao exposto, e verificando-se que as concentrações de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, que são vulgarmente encontradas nos diversos sistemas ambientais e em alimentos, podem atingir níveis de concentração significativos, não será de estranhar que o valor da TDI recomendado pela OMS (4 pg OMS-TEQ/kg m.c./dia) possa ser excedido por alguns grupos de população. Neste âmbito, e de acordo com os resultados anteriormente estimados, constata-se que a dose diária assimilada via ingestão pode alcançar 5,3 pg TEQ/kg m.c./dia para os homens e 6,7 pg TEQ/kg m.c./dia para as mulheres. Adicionalmente, os indivíduos que residam junto de importantes fontes de emissão atmosférica destes poluentes, tais como, as indústrias, as incineradoras ou outras, aumentam o seu grau de exposição, que por si só, já é substancial. Assim, e em conformidade com as estimativas anteriores, a dose diária assimilada via inalação, pode corresponder 0,03-0,57 pg I-TEQ/kg m.c./dia para os homens e 0,04-0,73 pg I-TEQ/kg m.c./dia para as mulheres. Com base nestes resultados, é bastante provável que certos grupos populacionais estejam assimilando uma dose diária destas substâncias superior à TDI recomendada pela OMS.

Torna-se portanto evidente que é necessário estabelecer medidas para reduzir o teor destes poluentes quer nos alimentos quer nas emissões atmosféricas para o meio ambiente. Algumas dessas medidas podem ser as seguintes:

1. Proibição e restrição de uso de determinados compostos organoclorados em países onde ainda não o foram, tais como, os PCBs, PCPs, herbicidas, pesticidas, ácidos benzénicos e etc.;
2. Otimização da tecnologia de combustão das incineradoras e imposição de valores limite de emissão em outros setores da indústria onde a emissão seja considerável;
3. Substituição do branqueamento do papel utilizando o cloro por outros processos;
4. A substituição de alguns aditivos halogenados da gasolina por outros que não o sejam.

2.4. ANÁLISE QUÍMICA

O desenvolvimento de um método de análise para a determinação de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina exige elevado nível de complexidade, uma vez que é requerida a capacidade de caracterização para diferentes tipos de matrizes, tais como:

1. Amostras de águas, fluidos biológicos e óleos;
2. Amostras de cinzas, lamas, solos e sedimentos;
3. Amostras de resíduos industriais (sólidos e líquidos);
4. Amostras de lixiviados;
5. Amostras de ar e efluentes gasosos provenientes de fontes fixas;
6. Amostras de efluentes líquidos (domésticos, hospitalares e industriais);
7. Amostras de tecidos e vegetação;

8. Amostras de biota²²;
9. Amostras de alimentos.

Tal como se depreende, a enunciada multiplicidade de matrizes é acima de tudo, uma consequência da extensa diversidade de amostras que é necessário caracterizar, pelo que o recurso a metodologias de análise bastante complexas, dispendiosas e sofisticadas é uma condição que deve ser considerada.

No entanto, para além do fator tipo de matriz, existem outros aspetos que condicionam a metodologia analítica, nomeadamente:

1. As concentrações de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina que são na generalidade dos casos bastante baixas (oscilando entre $\mu\text{g/kg}$ e pg/kg para as amostras de sólidos e entre as $\mu\text{g/L}$ e pg/L para as amostras de líquidos), pelo que, a sua determinação requer o uso de técnicas analíticas muito sensíveis;
2. A presença de substâncias interferentes nas amostras, geralmente em concentrações muito superiores às dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs, exige o recurso a procedimentos de limpeza de amostra (*clean-up*) bastante refinados, dispendiosos e complexos;
3. A elevada toxicidade, persistência e bioacumulação dos PCDD/Fs e dos PCBs potenciam a necessidade de uma determinação bastante seletiva, específica e rigorosa;
4. No caso das amostras de efluentes gasosos ou ar atmosférico existem ainda outros problemas, nomeadamente aqueles que estão relacionados com a amostragem, uma vez, que esta operação é bastante complexa e demorada (para estas amostras o tempo de amostragem recomendado varia entre 6 a 8 horas).

Face aos fatores anteriormente enunciados, e tendo em consideração a complexidade dos procedimentos de análise envolvidos, verifica-se que atualmente, as técnicas analíticas disponíveis que satisfazem essas exigências podem ser divididas em duas categorias distintas; as técnicas preparativas e as técnicas de quantificação.

2.4.1. PREPARAÇÃO DE AMOSTRA

Normalmente a monitorização de congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em sistemas ambientais tem início com a ação de amostragem. Assim, após a colheita, as etapas subsequentes consistem, de um modo geral, na extração dos analitos de interesse para um solvente orgânico apropriado (extrato), na eliminação dos interferentes co-extraídos, na redução do volume do extrato e, finalmente, na determinação do teor dos analitos nesse extrato. Relativamente ao processo descrito salienta-se, que após a determinação da concentração dos analitos no extrato

²² Em conformidade com o Decreto-Lei n.º 103/2010, de 24 de Setembro, que estabelece as Normas de Qualidade Ambiental (NQA) para as substâncias prioritárias e para outros poluentes, designa-se por “Biota”, o conjunto de seres vivos de um ecossistema que inclui a flora, a fauna, os fungos e outros grupos de organismos que vivem na água ou que dela dependem. [58]

final, torna-se necessário converter os resultados em termos da amostra, ou seja, é preciso determinar a massa total de analito presente no extrato, e posteriormente, dividir esse valor pela toma de amostra utilizada²³.

Desde logo se verifica, que a complexidade das operações referidas será grandemente influenciada pelo tipo de matriz da amostra em questão. O leitor facilmente compreenderá, que por exemplo, uma amostra de água para consumo humano, face ao grau de escrutínio a que é submetida, nomeadamente durante os processos de tratamento físico-químico efetuados nas Estações de Tratamento de Águas (ETAs), possuirá um nível de interferentes bastante reduzido. Nestas circunstâncias, é espectável que as operações analíticas necessárias para eliminar os interferentes das águas destinadas ao consumo humano, sejam diferentes quer em termos de complexidade ou sofisticação, das requeridas para analisar uma amostra de água residual. Assim, verifica-se que existe uma relação direta entre o tipo de matriz da amostra e a complexidade requerida para a sua análise. De um modo geral, pode afirmar-se que essa complexidade evolui no seguinte sentido:

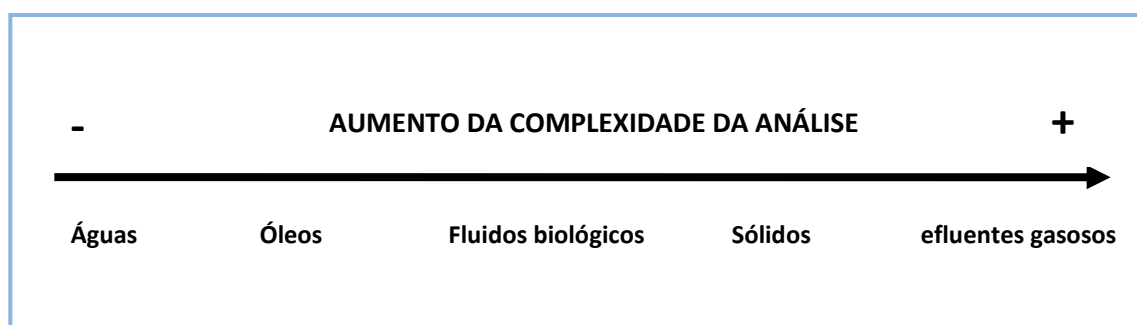


Figura 2.39. – Complexidade da análise de uma amostra em função da sua matriz.

A figura 2.39 retrata uma situação genericamente simplista, uma vez, que cada um dos referidos tipos de matrizes engloba subcategorias de matrizes, isto é, por exemplo, a matriz águas pode referir-se a águas de consumo humano, águas superficiais, ou no extremo de complexidade, as águas residuais. Considerando estritamente cada subcategoria, pode efetivamente verificar-se, que a complexidade requerida para a análise de águas residuais seja equivalente à requerida para a análise de solos ou lamas.

Constata-se portanto, que a análise dos congéneres de PCDD/Fs e PCB com atividade de dioxina em amostras ambientais inclui, na generalidade dos casos, uma etapa preparativa que é constituída por diferentes técnicas analíticas, nomeadamente a extração dos analitos, a eliminação de interferentes, a redução do volume de extrato e a determinação da concentração dos analitos de interesse. Constata-se também, que a presença de interferentes nas amostras ambientais, vulgarmente em concentrações muito superiores às dos analitos de interesse, impõe o recurso a operações unitárias

²³ Para o caso de amostras de líquidos a concentração dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com actividade de dioxina no extrato é convertida em massa, e posteriormente, divide-se esse resultado pelo volume da toma de amostra utilizado na etapa de extração. De modo análogo, para o caso de amostras de sólidos, a concentração dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com actividade de dioxina no extrato é convertida em massa, e posteriormente, divide-se esse resultado pela massa de amostra utilizada na etapa de extração.

morosas, complexas e sofisticadas, por forma a eliminar as substâncias co-extraídas que possam prejudicar as fases posteriores da análise.

2.4.2. EXTRAÇÃO DOS PCDD/Fs E PCBs COM ATIVIDADE DE DIOXINA

No que respeita à extração dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, existem diversos métodos disponíveis e referenciados na literatura científica, que podem ser utilizados. No essencial eles diferem sobretudo em função da matriz da amostra. Em seguida será efetuada uma breve descrição das diferentes metodologias extrativas para a análise de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina.

2.4.2.1. MATRIZES SÓLIDAS

Neste tipo de matriz, considera-se que as amostras de sólidos compreendem as cinzas, os sedimentos, os solos, as lamas, os resíduos, os tecidos (de vegetais ou animais), o biota e os alimentos. Para os sólidos referidos, os métodos de extração vulgarmente encontrados na literatura científica são os seguintes:

1. Extração por Soxhlet ou por Soxhlet/Dean-Stark;
2. Digestão com ácido ou base complementada por extração líquido-líquido;
3. Lavagem com solvente orgânico complementada por extração líquido-líquido;
4. Extração acelerada por solventes (*ASE – Accelerated Solvent Extraction*) ou extração líquida pressurizada (*PLE – Pressurized Liquid Extraction*);
5. A extração assistida por micro-ondas (*MAE – Microwave Assisted Extraction*).

Previamente à descrição das técnicas mencionadas salienta-se, que vulgarmente, antes de se proceder à extração das amostras de matriz sólida, efetua-se uma operação de desidratação ou secagem, isto é, sempre que o teor de água nessas amostras for elevado torna-se necessário a sua remoção. Este procedimento é importante, uma vez, que promove a eficiência da etapa de extração, e consequentemente, permite obter elevadas percentagens de recuperação²⁴ de analito. Assim, relativamente à desidratação das amostras de sólidos, verifica-se que atualmente existem diversas opções disponíveis, no entanto a liofilização tem ganho bastante primazia, uma vez, que se trata de uma técnica simples, expedita e eficaz, que possibilita a desidratação de várias amostras em simultâneo. Adicionalmente, o uso desta técnica minimiza as perdas de analito por volatilização, dado que ela não requer o uso de aquecimento.²⁵

²⁴ Segundo a DECISÃO DA COMISSÃO, de 12 de Agosto de 2002, que dá execução ao disposto na Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados, define-se recuperação como a percentagem da concentração real de uma substância recuperada durante o processo analítico. [59]

²⁵ Tal como apresentado na tabela 2.9, embora os congêneres de PCDD/Fs apresentem pressões de vapor bastante baixas, eles podem ser volatilizados por intermédio de aquecimento. Neste sentido, salienta-se que a volatilidade de uma substância (α_a) corresponde à razão entre a sua fração molar na fase de vapor e a fração molar na fase líquida. [60]

Extração por Soxhlet ou por Soxhlet/Dean-Stark

A extração por Soxhlet consiste num processo extrativo do tipo sólido-líquido (também designado por lixiviação²⁶). Genericamente, este método utiliza um determinado volume de solvente orgânico (tolueno, hexano, ciclohexano, diclorometano ou misturas destes) para extrair os congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. O solvente é colocado num balão ao qual se adapta um tubo extrator de Soxhlet, tal como apresentado na figura 2.40. A amostra a extrair é pesada já no interior de um cartucho de celulose ou de fibra de vidro, e posteriormente, transfere-se o cartucho para o tubo extrator de Soxhlet. Normalmente nas análises de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, antes da etapa de extração propriamente dita, é vulgar a adição do padrão interno de extração. Este padrão contém os vários congéneres marcados com carbono-13, e a sua quantificação no final da análise, permite avaliar a eficiência da etapa de preparação de amostra. Após a adição do padrão de extração, coloca-se o conjunto balão/extrator Soxhlet (com o cartucho de celulose e a amostra) numa manta de aquecimento e leva-se o solvente orgânico até à ebulição. Assim, por ação de um sistema de refrigeração que é colocado no topo do tubo de Soxhlet, o solvente evaporado do balão, e que sobe através de um sifão localizado na lateral do tubo de Soxhlet, condensa e é depositado por cima do cartucho de celulose onde se encontra a amostra. Desta forma, sempre que o condensado atinge um determinado nível no tubo extrator, ele é enviado outra vez para o balão por intermédio de outro sifão. Para se obter uma boa eficiência extrativa, e consequentemente uma elevada recuperação dos PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, este processo cíclico de evaporação/condensação, é repetido durante um período de tempo significativo que variar entre 12 a 48 horas [61,62].

Para além do elevado consumo de tempo por amostra, constata-se também, que este método tem mais dois inconvenientes. O primeiro consiste no elevado consumo de solvente orgânico (pode variar entre os 125 e 500 ml), enquanto o segundo está relacionado com o elevado consumo de água que é necessária para garantir a refrigeração do tubo de Soxhlet. Por exemplo, utilizando os sistemas convencionais, isto é, a refrigeração em circuito aberto por água corrente, torna-se evidente que o custo associado a 12 ou 48 horas de desperdício de água é um fator ambientalmente relevante.

²⁶ Processo, segundo o qual, se utiliza um líquido para dissolver um componente sólido de uma mistura sólida com um resíduo menos solúvel [60].

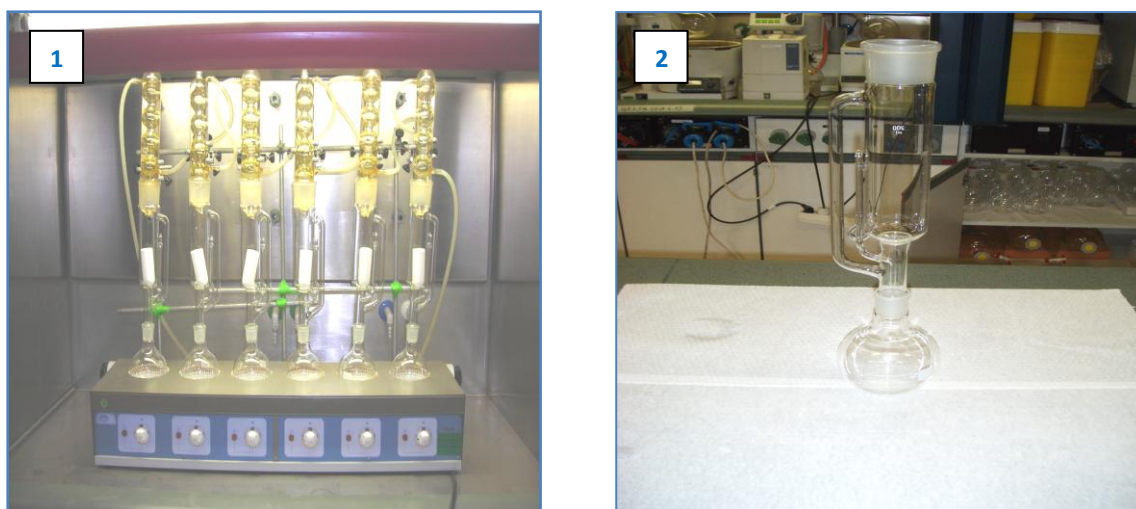


Figura 2.40. – Equipamentos extrativos (1 – Bateria de extração com a respetiva manta de aquecimento e 2 – Tubo de extração por Soxhlet acoplado ao respetivo balão).

Digestão com ácido ou base complementada por extração líquido-líquido

Esta técnica de extração consiste na adição de ácidos ou base concentrados à amostra sólida, e posteriormente, a mistura é submetida a agitação durante um período de tempo, que pode oscilar entre as 12 e 24 horas. Deste modo, verifica-se que no caso da digestão com ácido é vulgar utilizar o ácido clorídrico ou nítrico, enquanto que a digestão com base, recorre normalmente ao uso do hidróxido de sódio ou de potássio. Após a digestão, adiciona-se à fase aquosa o padrão de extração com os PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, e submete-se a mesma, a uma extração líquido-líquido (técnica que será descrita adiante). No final da extração, obtém-se um extrato contendo os analitos de interesse e prossegue-se para as seguintes etapas da determinação analítica.

Assim, verifica-se, que tal como no caso da extração por Soxhlet, o consumo de tempo durante a etapa extrativa pode ser bastante considerável (normalmente cerca de 24 horas, acrescido do tempo necessário para efetuar a extração líquido-líquido, que considerando três ciclos extrativos consecutivos de 5 minutos, implica um período de tempo de aproximadamente 60 minutos). Por outro lado, o consumo de solventes orgânicos também é um fator a ter em consideração, dado que para a extração dos PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, a técnica de extração líquido-líquido normalmente implica por cada ciclo extrativo, a utilização de uma toma de 50 ml de solvente (tomando como referência um volume de amostra aquosa de 500 ml). Deste modo, são requeridos cerca de 150 ml de solvente orgânico para extrair de uma amostra sólida com base nesta técnica (designadamente, 3 x 50 ml da extração líquido-líquido) e um período de tempo que pode oscilar entre 12 e 24 horas.



Figura 2.41. – Sistema automático de digestão de amostras sólidas.

Lavagem com solvente orgânico complementada por extração líquido-líquido

Esta técnica extrativa trata-se de uma variante do caso anterior. No entanto, nesta técnica, a amostra é colocada num recipiente, ao qual é adicionado um determinado volume de solvente orgânico com características polares [63]. A mistura é então submetida a agitação durante um certo período de tempo. Salienta-se também, que durante a agitação pode ser utilizado o aquecimento, por forma a incrementar a solubilidade dos analitos no solvente. Assim, no final do processo, adiciona-se o padrão de extração com os PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina e prossegue-se para uma extração líquido-líquido. Tal como no caso anterior, verifica-se a necessidade de utilização de 150 ml de solvente orgânico para a extração líquido-líquido (designadamente, 3 x 50 ml da extração líquido-líquido), bem como mais cerca de 300 ml de solvente para a lavagem inicial (considerando 5 ciclos de lavagem com volume unitário de 60 ml). No que respeita à duração, verifica-se que é necessário um período extrativo de cerca de 150 minutos para a etapa de lavagem, (considerando os mesmos 5 ciclos com período unitário de 30 minutos), acrescidos dos 60 minutos, correspondentes à etapa de extração líquido-líquido.

Extração acelerada por solventes (ASE – *Accelerated Solvent Extraction*) ou Extração líquida pressurizada (PLE – *Pressurized Liquid Extraction*)

Outra das técnicas disponíveis para a extração de amostras de sólidos consiste na extração acelerada por solventes (ASE) ou extração líquida pressurizada (PLE) [64,65]. Esta técnica recorre ao uso de equipamentos automáticos semelhantes aos apresentados na figura 2.42. Assim, inicialmente a amostra é colocada numa célula metálica, sendo-lhe posteriormente adicionado o padrão de extração com os PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Em seguida, a célula é colocada no equipamento ASE/PLE, onde por intermédio do recurso a um solvente orgânico apropriado, bem como pelo controlo dos níveis de pressão e temperatura durante o processo extrativo, é possível efetuar a extração dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, de forma relativamente rápida e eficaz.

A técnica de extração por ASE/PLE possui duas vantagens relativamente às anteriores, isto é, possibilita a extração de amostras sólidas em tempos relativamente reduzidos e necessita de um menor consumo de solvente orgânico. Neste sentido, enquanto que a extração de uma amostra sólida pela técnica de Soxhlet, requer um período extrativo que varia entre 12 a 48 horas, bem como um consumo de solvente orgânico associado que oscila entre 125 e os 500 ml, a extração da mesma amostra recorrendo a um sistema de ASE/PLE, necessita apenas de um período de tempo de 15 a 60 minutos e de um consumo de solvente orgânico que varia entre os 10 e os 50 ml, dependendo estes dois fatores, do número de ciclos extrativos associados ao método.

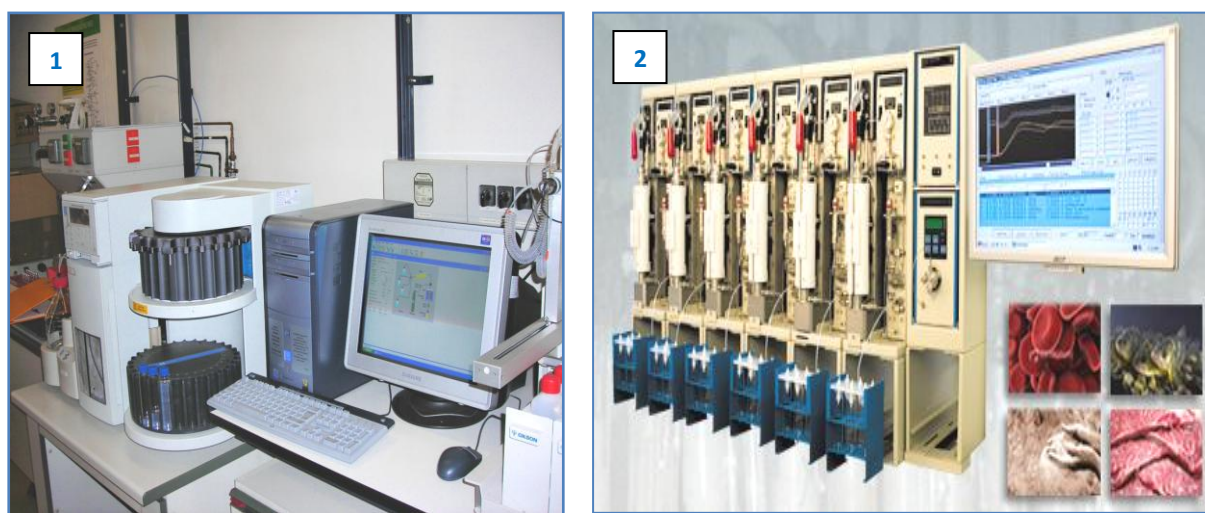


Figura 2.42. – Equipamentos de extração (1 – Sistema ASE Dionex 200 e 2 – Sistema PowerPrep/FMS).

A extração assistida por micro-ondas (MAE – Microwave Assisted Extraction);

Esta técnica de extração foi desenvolvida como alternativa à extração de contaminantes orgânicos pelos métodos de extração convencionais (Soxhlet e digestão ácida ou básica complementada por extração líquido-líquido). Nesta técnica, a amostra sólida é colocada num recipiente cilíndrico de teflon, por exemplo com cerca de 10 cm de altura e 3 cm de diâmetro, adicionam-se 20 ml de solvente orgânico e o padrão de extração com os PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Finalmente coloca-se o recipiente com a mistura num equipamento de micro-ondas semelhante ao que é apresentado na figura 2.43 e inicia-se a etapa de extração.

As principais vantagens desta técnica consistem, tal como no caso enunciado no ponto anterior, na redução do tempo extrativo (pode oscilar entre 5 a 30 minutos) e no menor consumo de solvente orgânico (normalmente, inferior a 100 ml). Para além destas duas vantagens, existe ainda outra característica interessante, ou seja, esta técnica permite efetuar a extração dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina de uma amostra sólida, num equipamento de micro-ondas doméstico. Com efeito, e de acordo com as referências bibliográficas consultadas, constata-se que basta apenas um equipamento com potência de 500 Watt para ser possível a obtenção de recuperações de analito acima de 85% [66].



Figura 2.43. – Equipamento de extração de amostra por intermédio de micro-ondas.

Para finalizar este tópico, salienta-se também, que existem outras técnicas extrativas disponíveis mas menos citadas na literatura científica, designadamente a extração de amostras de sólidos por ultras-sons com banho ou sonda.

2.4.2.2. MATRIZES LÍQUIDAS

A extração de amostras de líquidos, nomeadamente, águas, fluidos orgânicos, óleos e outras, utiliza o recurso a métodos de extração específicos que diferem significativamente dos utilizados para as amostras de sólidos. No geral, estes têm de ser robustos e passíveis de serem utilizados para a análise de diferentes matrizes de líquidos. Verifica-se deste modo, que os métodos de extração de amostras líquidas mais vulgarmente referidos na literatura científica são os seguintes:

1. Extração Líquido-Líquido (*LLE – Liquid-Liquid Extraction*);
2. Extração em fase sólida (*SPE – Solid Phase Extraction*);
3. Extração por fluido supercrítico (*SCFE – Supercritical Fluid Extraction*).

A extração de amostras de líquidos, tal como no caso das amostras de sólidos, pode envolver um passo prévio de desidratação. Por exemplo, a determinação do teor de congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em matrizes, tais como o leite ou o sangue, necessita de uma etapa inicial para a remoção da água presente na amostra. Posteriormente, o resíduo é tratado de acordo com os procedimentos enunciados para a extração de amostras de sólidos. Por outro lado, normalmente algumas amostras de líquidos, nomeadamente as águas, podem necessitar de filtração, de modo a remover eventuais partículas em suspensão que possam comprometer a análise.

Extração Líquido-Líquido (LLE – Liquid-Liquid Extraction)

Esta técnica de extração consiste em estabelecer o contacto entre duas fases líquidas total ou parcialmente imiscíveis permitindo então a transferência de um ou mais solutos de uma delas (designada por amostra) para outra (designada por extrato). Esta técnica baseia-se na distribuição ou partição de um ou mais solutos, entre duas fases líquidas, e normalmente, utiliza como solventes orgânicos o tolueno, o hexano, o diclorometano, a acetona ou misturas binárias destes. De modo a permitir uma elevada recuperação dos analitos da amostra, podem ser efetuadas várias extrações consecutivas (contatos entre as fases), renovando o solvente após cada uma delas. Por outro lado, para minimizar o consumo de solvente orgânico, a razão solvente/amostra durante a extração deve ser inferior a 1. Genericamente, para extrair 1 litro de amostra, requerem-se entre 90 a 150 ml de solvente orgânico, sendo que o respetivo tempo de extração pode variar entre os 30 a 90 minutos. Para finalizar, salienta-se, que o contacto entre as fases líquidas é promovido por agitação e a separação efetua-se por intermédio de uma decantação. Na figura 2.44 apresenta-se um agitador mecânico e as respetivas ampolas de decantação.

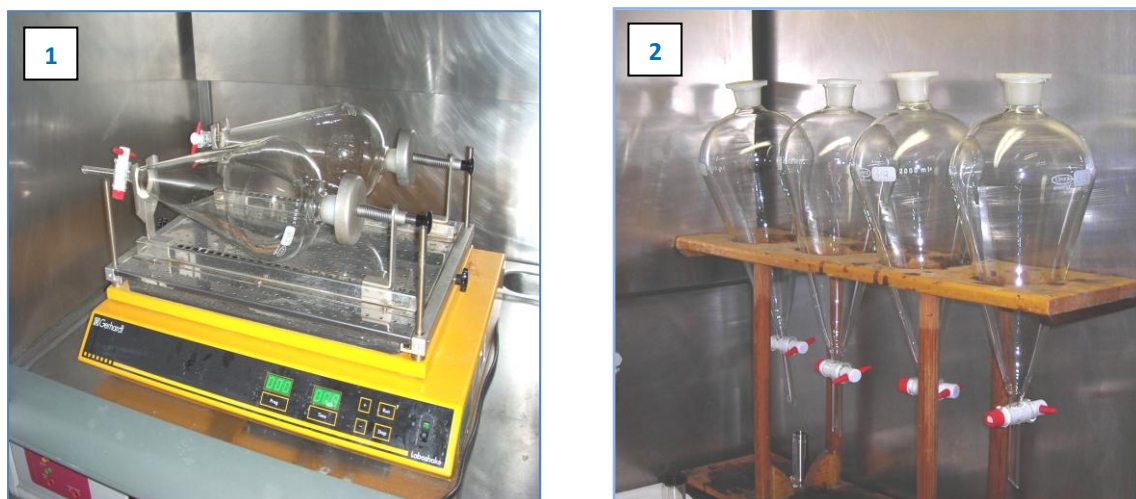


Figura 2.44. – Equipamentos de extração (1 – Agitador mecânico e 2 – Ampolas de decantação).

O processo extrativo típico, consiste em colocar 1000 ml de uma amostra de água numa ampola de decantação, adiciona-se o padrão de extração com os PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, agita-se a mistura para homogeneizar e deixa-se repousar durante 5 minutos. Posteriormente, a mistura é submetida a três extrações sucessivas com 50 ml de tolueno ou diclorometano, utilizando um agitador mecânico para fomentar o contacto. A extração tem uma duração unitária de 5 minutos, e após esse período, deixa-se repousar a mistura durante 10 minutos. No final, o extrato é decantado e a amostra é sujeita a novas extrações com solvente orgânico “fresco”.

Extração em fase sólida (SPE – Solid Phase Extraction)

Esta técnica de extração consiste em fazer passar a amostra líquida através de uma membrana porosa com propriedades de polaridade específicas para a adsorção²⁷ de um determinado analito ou família de analitos. Estas membranas, são vulgarmente constituídas por substâncias, tais como, o Octil (C8), o Octadecil (C18), o benzenodivinilestireno (SDB-XC), entre outras, permitindo adsorver diversas famílias de moléculas na sua superfície, em função da polaridade. Assim, enquanto que as membranas de Octil e Octadecil são capazes de adsorver moléculas apolares ou muito pouco polares, as membranas de benzenodivinilestireno, permitem alargar o espectro de aplicação e adsorver as moléculas polares. Neste sentido, a escolha da membrana a utilizar na extração de uma amostra de água deve estar de acordo com as propriedades dos analitos de interesse, designadamente em termos de polaridade.

Genericamente, a extração de um volume de até um 1 litro de amostra de água, requer a utilização de entre 10 a 30 ml de solvente orgânico, sendo que o tempo de extração pode variar entre os 15 a 30 minutos. Assim, numa extração em fase sólida típica, colocam-se 1000 ml de amostra de água num recipiente apropriado, adiciona-se o padrão de extração com os PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, agita-se a mistura para homogeneizar e deixa-se repousar durante 5 minutos. Posteriormente, faz-se passar a mistura por uma membrana adequada numa rampa de extração do género da apresentada na figura 2.45. Finalmente, eluem-se os analitos da membrana através da adição de uma ou mais tomas de solvente orgânico.

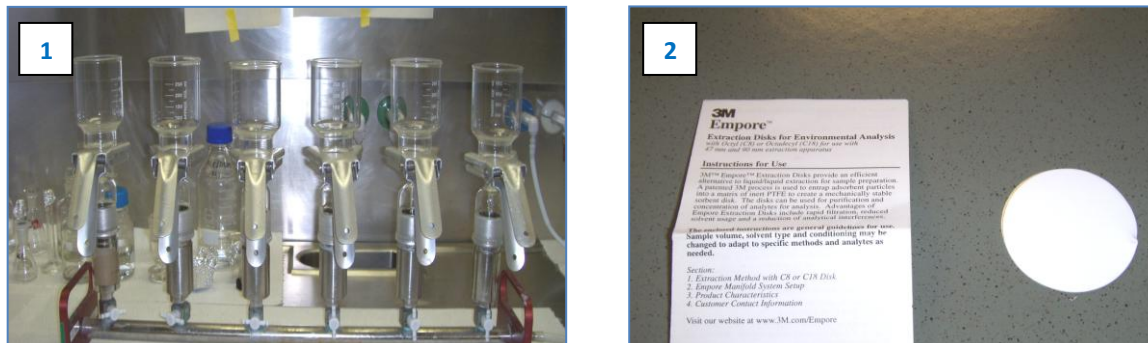


Figura 2.45. – Equipamentos de extração (1 – Rampa de extração em fase sólida e 2 – Membranas SPE de Octadecil – C18).

Extração por fluido supercrítico (SCFE – Supercritical Fluid Extraction)

Esta técnica de extração pode ser utilizada para amostras de líquidos ou de sólidos, no entanto, a sua utilização em amostras de líquidos complexos (por exemplo, óleos e gorduras) tem sido bastante referenciada na literatura científica [67,68]. Nesta técnica, o eluente é um fluido comprimido, tal como o gás dióxido de carbono. Assim, este gás é comprimido a uma pressão superior à sua pressão crítica, apresentando deste modo, uma densidade extremamente elevada (nestas condições, o seu

²⁷ A adsorção é um fenómeno superficial que ocorre através da atração da superfície da membrana pelas moléculas das substâncias presentes em solução.

poder solubilizante é amplamente elevado). Assim, é possível separar os componentes de uma amostra sem ser necessário alcançar os valores de temperatura exigidos, quando se trabalha em condições de pressão normais. Esta técnica, apresenta algumas vantagens relativamente às convencionais, nomeadamente a elevada velocidade de extração, a extrema seletividade e o reduzido consumo de solventes orgânicos. Por estes motivos, a extração por fluido supercrítico é normalmente utilizada na extração de compostos orgânicos fracamente voláteis e termicamente sensíveis, tais como, os princípios ativos naturais ou bioquímicos. Por outro lado, tem como inconvenientes as elevadas pressões exigidas para extrair os analitos de interesse e a alta dependência das características da matriz.

2.4.2.3. MATRIZES GASOSAS

Este tipo de matrizes exhibe complicações que começam logo durante o processo de amostragem, uma vez, que para se obter uma amostra representativa é necessário utilizar dois tipos de adsorventes. O primeiro consiste num filtro, normalmente em fibra de vidro, que tem por função reter a fração particulada do efluente gasoso, enquanto que o segundo trata-se de um sólido poroso, tal como a espuma de poliuretano (PUF – *Poliurethane Foam*) ou uma resina porosa (XAD-2), cuja função consiste em reter a fração gasosa. Durante a amostragem é também obtida uma fração líquida mista (orgânica/aquosa). Esta consiste no resultado da mistura da água que condensou durante o processo de amostragem, com o solvente orgânico que foi utilizado para lavar as partes do trem de amostragem que contactaram com o efluente gasoso. Todas estas fases podem ser extraídas através dos métodos enunciados nos pontos anteriores.

Verifica-se portanto, que embora exista uma vasta gama de possibilidades para extrair os PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina de diferentes tipos de amostra, em maior ou menor grau, existe uma ampla margem de latitude, sobretudo no que respeita à diminuição do tempo de extração e do consumo de solventes orgânicos. Noutra vertente, algumas das técnicas apresentam também inconvenientes, tais como a necessidade de um elevado treino por parte do operador e um custo significativo em termos de equipamento de extração.

2.4.3. LIMPEZA DE AMOSTRA

Após a extração das amostras segue-se a etapa mais crítica numa análise de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, isto é, a limpeza do extrato proveniente da extração. Tal como no caso da extração, verifica-se que existe uma grande diversidade de técnicas disponíveis para a etapa de limpeza das amostras. Esta operação é extremamente importante, uma vez, que após a extração o extrato orgânico apresenta-se “carregado” simultaneamente com os analitos de interesse (congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina), bem como com outras substâncias co-extraídas (PAHs, PCNs, PBBs, PDBEs, PCDEs, PCDPEs, pesticidas organoclorados e outras). Deste modo, o extrato tem de ser submetido a procedimentos de limpeza, por forma a remover o máximo possível de substâncias co-extraídas que possam interferir e comprometer as seguintes etapas da determinação analítica.

Porém, a purificação das amostras é uma das tarefas mais complicadas das determinações analíticas, pois tal como enunciado, existe uma extensa diversidade de matrizes para as quais se requer a análise dos PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. É portanto importante estabelecer uma metodologia abrangente, que seja capaz de lidar com a vasta gama de interferentes e de matrizes. Os métodos usualmente referidos na literatura científica para a etapa de limpeza do extrato, na determinação dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, são os seguintes:

1. Lavagem com ácido, bases ou agentes oxidantes fortes;
2. A repartição líquido-líquido;
3. A cromatografia líquido-sólido em coluna por processo de adsorção ou permeação de gel;
4. A cromatografia líquida de alta pressão de fase normal ou fase reversa;
5. Cromatografia líquido-sólido em multi-coluna (sílica, alumina, carvão ativado).

Salienta-se ainda, que relativamente aos procedimentos de limpeza, normalmente utilizam-se para uma mesma amostra dois ou mais deles de forma sequencial, para que seja possível remover o maior número de substâncias interferentes. No entanto, estes têm todos em comum algumas características cruciais, isto é, devem separar os interferentes sem que se percam os analitos de interesse. Assim, a metodologia de quantificação empregue para a deteção dos analitos irá sempre condicionar a escolha dos procedimentos de limpeza de amostra.

Finalmente, refere-se que as técnicas enunciadas anteriormente baseiam-se em três princípios fundamentais, isto é, na destruição química de interferentes, na repartição líquido-líquido e na cromatografia.

Lavagem com ácido, bases ou agentes oxidantes fortes

Esta técnica de limpeza é utilizada sobretudo para amostras biológicas que contêm um elevado teor de lípidos ou gorduras. Assim, após a extração, o extrato é colocado numa ampola de decantação e adiciona-se-lhe ácido concentrado (normalmente o sulfúrico). Posteriormente, submete-se a mistura a agitação durante 1 minuto para fomentar o contacto entre as fases, e em seguida, deixa-se repousar durante 16 horas. No final deste período o ácido é decantado e o extrato purificado é retirado da ampola de decantação. Refere-se também, que a eliminação total do conteúdo de lípidos de um extrato pode ser necessitar mais do que uma lavagem com o ácido.

De modo semelhante ao descrito para a lavagem com ácido, a limpeza pode igualmente ser efetuada com recurso a bases fortes, tais como, o hidróxido de sódio ou potássio.

A repartição líquido-líquido

Este método já abordado anteriormente, devido à sua grande versatilidade, é também passível de ser utilizado durante a etapa de limpeza de amostra. Deste modo, baseando-se a extração líquido-

líquido no princípio da distribuição ou partição de um ou mais solutos entre duas fases líquidas, é natural a sua utilização para remover algumas substâncias interferentes ou indesejadas, que estejam presentes no extrato.

A cromatografia líquido-sólido em coluna por processo de adsorção ou permeação gel

Este método consiste na utilização da técnica de cromatografia para a purificação do extrato proveniente da etapa extrativa. Assim, o extrato é forçado a atravessar uma coluna contendo sílica, alumina, florissil, ou as formas modificadas destas substâncias (nomeadamente as formas ácidas, neutras e alcalinas). Neste processo, a fase estacionária ou enchimento da coluna, ao ser atravessada pelo extrato vai reter algumas substâncias interferentes, sendo os analitos de interesse eluídos da coluna para um extrato livre das substâncias indesejadas. Salienta-se, que normalmente no caso da limpeza de amostras de matriz complexa, tais como, os alimentos, o leite ou o sangue, é vulgar a utilização de operações de limpeza por cromatografia líquido-sólido em multi-coluna. Esta técnica, utiliza em simultâneo duas ou três colunas de limpeza (sílica/alumina ou sílica/alumina/carvão ativado), em que o extrato é forçado a atravessar as colunas de forma sucessiva. Numa etapa posterior, os analitos de interesse são eluídos das colunas por ação do recurso a solventes orgânicos apropriados. O princípio cromatográfico subjacente a esta técnica de limpeza consiste na adsorção/partição dos interferentes pela coluna ou fase estacionária.

Outra variante da técnica consiste na utilização de uma coluna em que a fase estacionária é um gel. Neste caso, o princípio de ação cromatográfica é diferente, isto é, a sua ação funciona através de um crivo molecular que permite a passagem de algumas substâncias do extrato e impede a passagem de outras (compostos de elevado peso molecular, tais como, os lípidos ou as proteínas, que possuem massas com mais de 100000 u, podem ser removidos por este processo).

2.4.4. SEPARAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

A última etapa da metodologia analítica para a determinação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, consiste na análise cromatográfica do extrato purificado. Assim, após a etapa de preparação de amostra (extração e limpeza do extrato) segue-se a etapa de separação, identificação e quantificação dos analitos. Para esse efeito, é necessário dispor de uma capacidade técnica de análise, que seja capaz de separar os analitos de interesse e quantificá-los em reduzidos valores de concentração. Adicionalmente, a técnica de análise terá também de conseguir resolver os eventuais interferentes, que não foi possível eliminar durante a parte da preparação de amostra.

A separação cromatográfica

Atualmente, a técnica de referência para a determinação dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina é a Cromatografia Gasosa²⁸ acoplada à Espectrometria de Massa (GC/MS – *Gas Chromatography–Mass Spectrometry*). Uma vez que se vulgarizou o uso de colunas cromatográficas com elevada eficiência e seletividade, tais como, as colunas capilares de revestimento interno líquido (cuja denominação em desuso, consiste Cromatografia Gasosa de Alta Resolução), verifica-se que é possível efetuar a separação de um elevado número de substâncias (incluindo isómeros), numa única “corrida” com duração de apenas 40 minutos. Por outro lado, estas colunas exibem baixas taxas de “sangramento”²⁹, em particular as colunas apolares, tais como, as DB-5 ou VF-5MS que utilizam uma fase estacionária constituída por 5% de fenil e 95% de dimetipolissiloxano. Estas características, permitem obter uma boa sensibilidade na análise dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, e sobretudo, estendem a vida útil da coluna até períodos de operação superiores a 1 ano (em condições normais de análise). Neste âmbito, exige-se que a coluna cromatográfica permita uma boa separação dos compostos, em especial, os 17 congêneres de PCDD/Fs e os 12 de PCBs com atividade de dioxina considerados mais tóxicos, ou seja, os que têm fatores de equivalência de toxicidade atribuídos (apresentados tabela 2.12).

Existem colunas cromatográficas de características polares e apolares. As primeiras promovem a separação dos constituintes de uma amostra em função da polaridade dos compostos nela presentes, enquanto que as colunas apolares separam os constituintes em função do seu peso molecular [6]. Esta dualidade de mecanismos de separação conduz a separações cromatográficas muito diferenciadas que dependem do tipo de polaridade da coluna utilizada. Todavia verifica-se, que atualmente, não existe nenhuma coluna cromatográfica que seja capaz de separar em simultâneo os 17 congêneres de PCDD/Fs dos restantes 213³⁰. Assim, sempre que seja requerida uma identificação inequívoca dos congêneres 2,3,7,8 substituídos é necessário utilizar, pelo menos, duas colunas de polaridade diferente e análises separadas.

A coluna de eleição para a análise dos 17 congêneres de PCDD/Fs e dos 12 PCBs com atividade de dioxina, é a coluna capilar de 60 metros de comprimento cuja fase estacionária é constituída por 5%

²⁸ A Cromatografia Gasosa pode significar dois tipos distintos de cromatografia, designadamente a Cromatografia Gás-Líquido (CGL) ou a Cromatografia Gás-Sólido (CGS). Embora não seja totalmente correto, o termo Cromatografia Gasosa refere-se à técnica de Cromatografia Gás-Líquido. Nesta técnica, utilizam-se para separar os analitos, colunas capilares com elevada eficiência e seletividade que possuem um alto número pratos teóricos (em alguns casos, mais de 200000) e cujo comprimento varia entre os 5 e os 300 metros. O termo Gás-Líquido utiliza-se, porque as colunas capilares ou tubulares abertas que são utilizadas (de diâmetro interno variável entre 0,25 a 1 mm), são constituídas por um suporte sólido inerte em forma de tubo (usualmente, sílica fundida), no qual, as paredes interiores são revestidas por um fino filme líquido que funciona como fase estacionária (por exemplo, o dimetilpolissiloxano). Salienta-se também, que normalmente a cromatografia Gás-Líquido utiliza como eluente um gás de arraste (hidrogénio ou o hélio).

²⁹ Em cromatografia o termo “sangramento” utiliza-se para fazer referência ao sinal produzido no detetor pela sucessiva degradação da fase estacionária de uma coluna cromatográfica, durante as análises. Salienta-se também, que o “sangramento” de uma coluna tende a aumentar com sua vida útil, bem como com o aumento da temperatura durante as análises.

³⁰ De modo análogo, também se verifica, que não é possível separar numa única coluna cromatográfica os 12 congêneres de PCBs com actividade de dioxinas dos 197 restantes. Atente-se para o facto de que não é possível a separação do 2,3,3',4,4',5-HxCB (PCB IUPAC #138) numa coluna DB-5 ou VF-5MS, uma vez, que este coelui com o 2,3,3',4,4',5-HxCB (PCB IUPAC #160) e o 2,3,3',4,4',5-HxCB (PCB IUPAC #163), tal como demonstram os trabalhos de Larsen et al. (1992). [69]

de fenil e 95% de dimetilpolissiloxano (coluna apolar, por exemplo a DB-5 ou VF-5MS). Contudo, considerando o que foi enunciado, verifica-se que para identificar inequivocamente alguns isómeros críticos é necessário outra coluna com maior polaridade, por forma, a resolver sem margem de dúvida todos os constituintes (por exemplo, a coluna DB-Dioxin ou a CP SIL 88 – fase estacionária constituída por cianopropilpolissiloxano).

Na figura 2.46 apresentam-se alguns dos cromatogramas obtidos na separação dos congêneres de PCDD/Fs, quando se utiliza uma coluna cromatográfica com 60 metros de comprimento constituída por 5% de fenil e 95% de dimetilpolissiloxano (coluna apolar do tipo DB-5 ou VF-5MS).

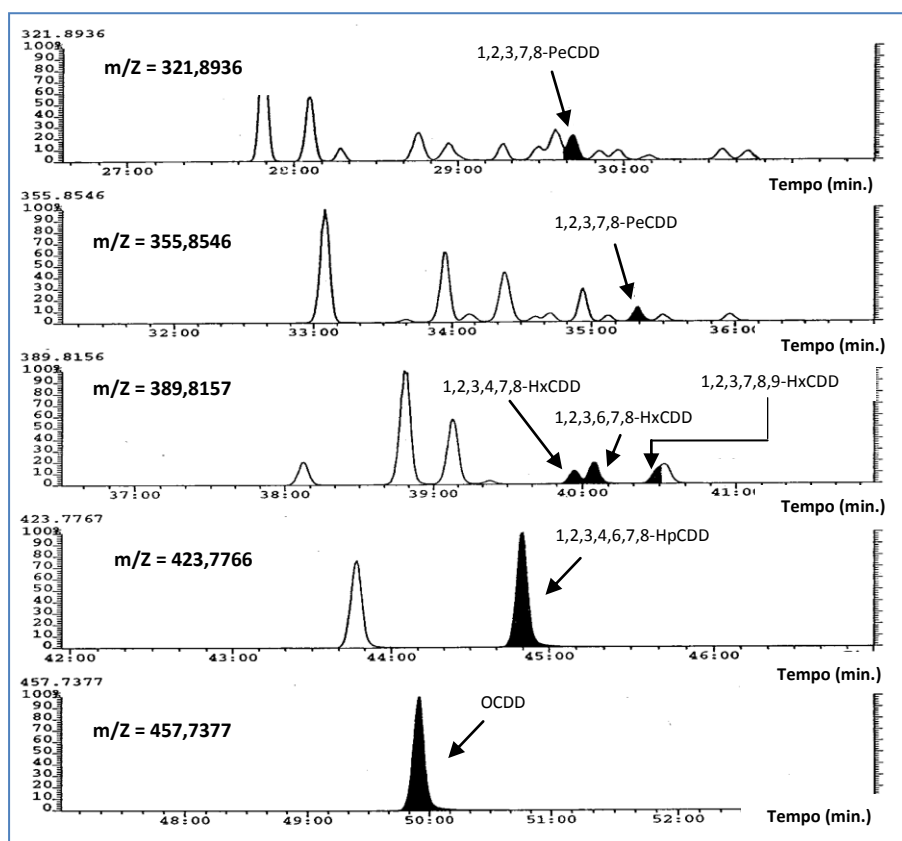


Figura 2.46. – Separação dos congêneres de PCDDs numa coluna cromatográfica apolar do tipo DB-5. [6]

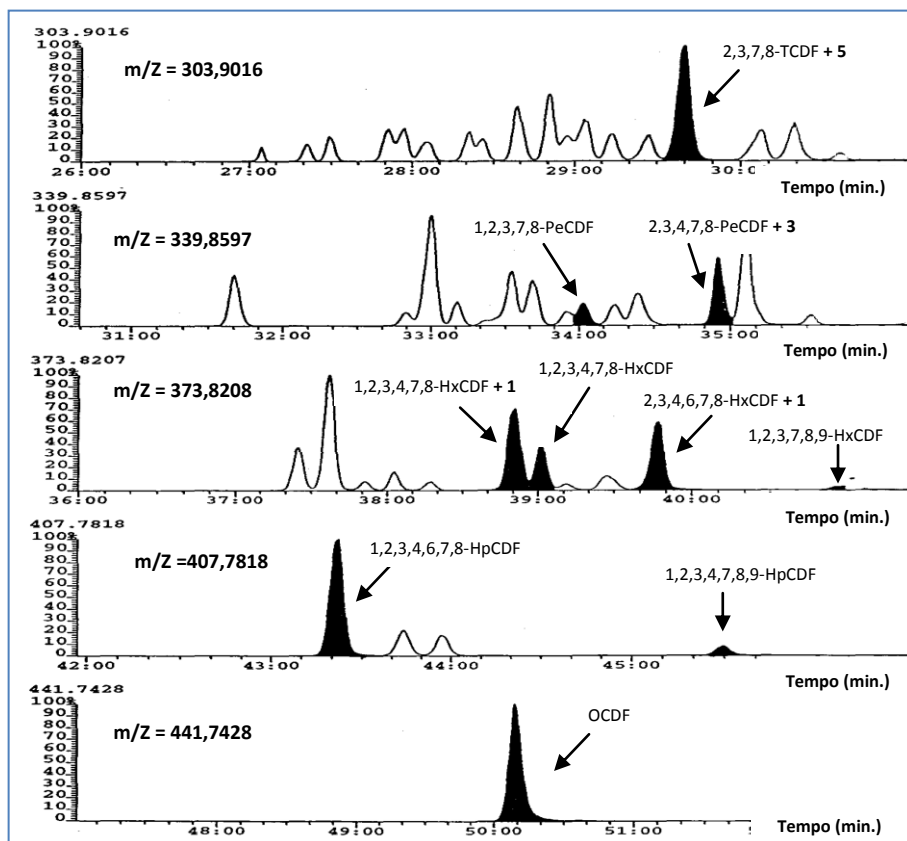


Figura 2.47. – Separação dos congêneres de PCDFs numa coluna cromatográfica apolar do tipo DB-5. [6]

Nesta figura os termos “+1”, “+3” e “+5” correspondem ao número de compostos interferentes co-eluídos com os congêneres de PCDFs, no mesmo pico cromatográfico.

Verifica-se pela análise das figuras 2.46 e 2.47, que os congêneres de TCDF, PeCDF, HxCDF e HxCDD, não são totalmente resolvidos numa coluna cromatográfica com 60 metros de comprimento constituída por 5% de fenil e 95% de dimetilpolisiloxano. Neste sentido, atente-se às janelas cromatográficas dos HxCDDs ($m/z = 389,8157$), TCDFs ($m/z = 303,9016$), PeCDFs ($m/z = 339,8597$) e HxCDFs ($m/z = 373,8208$), as quais permitem constatar que alguns dos congêneres de PCDD/Fs não totalmente resolvidos, apresentando-se portanto co-eluídos com outros compostos interferentes

Para finalizar a abordagem à separação cromatográfica dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, salientam-se as principais vantagens da utilização de colunas capilares apolares sobre as polares:

1. As colunas apolares (tais como, as DB-5 ou VF-5MS) eluem os diferentes congêneres de acordo com o seu grau de cloração, isto é, em primeiro lugar são eluídos os congêneres tetraclorados, depois os pentaclorados, em seguida os hexaclorados, e assim sucessivamente, até aos octaclorados (em consecutivas janelas cromatográficas separadas, tal como se apresentou nas figuras 2.46 e 2.47). Deste modo verifica-se, que com este tipo de colunas, não ocorre a sobreposição de distintas janelas cromatográficas, pelo que é possível seleccionar apenas algumas razões (m/Z) em cada janela no espectrómetro de massa.

Este modo de operação permite aumentar a sensibilidade do detetor, o que possibilita obter limites de quantificação mais baixos. Inversamente ao que foi descrito, o mesmo não sucede com as colunas polares, uma vez, que estas não conseguem eluir os congéneres em janelas cromatográficas separadas, e por conseguinte, contribuem para uma menor sensibilidade na operação do detetor.

2. As colunas apolares conseguem lidar melhor com as temperaturas elevadas necessárias para a separação cromatográfica dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, mesmo quando estas alcançam os 300°C. Esta situação não ocorre com as colunas polares, uma vez, que as repetidas condições de trabalho nesta gama de temperatura condicionam fortemente a vida útil da coluna (por vezes o seu período de utilização é inferior a 2 meses).

A identificação e quantificação

No seguimento da separação cromatográfica dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, encontra-se a identificação e quantificação dos analitos. Este passo constitui o ponto final de toda a metodologia de análise, representando também o âmago da determinação analítica, isto é, a obtenção do teor dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina no extrato e, consequentemente, na amostra. Neste sentido, requer-se que o detetor a ser utilizado possibilite uma deteção seletiva e reprodutível dos analitos e, que simultaneamente, seja sensível o bastante de modo a que permita alcançar limites de quantificação consideravelmente baixos. Assim, é vulgar a utilização de técnicas de acoplamento entre a cromatografia de separação e os detetores que permitem efetuar a identificação/quantificação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, nomeadamente:

1. CG/ECD (Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Captura Eletrónica);
2. GC/LRMS (Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Espectrometria de Massa de Baixa Resolução);
3. GC/MS-MS (Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Espectrometria de Massa que opere em modo sequencial ou *tandem*, ou seja, que permita efetuar uma segunda fragmentação dos iões);
4. GC/HRMS (Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Espectrometria de Massa de Alta Resolução).

Analisando em maior detalhe cada das referidas técnicas, facilmente se constata que estas possuem características diferentes.

No que diz respeito à Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Captura Eletrónica, verifica-se que este tipo de sistema possui algumas desvantagens. Embora o detetor de captura eletrónica possua uma boa sensibilidade e seletividade para os PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, uma vez, que estes são compostos organohalogenados, e por conseguinte, possuem elevada afinidade eletrónica, ele possui a desvantagem de ser pouco seletivo. Neste contexto verifica-se, que o detetor de capura eletrónica possuiu sérias limitações, sobretudo devido à sua incapacidade de distinguir os compostos de interesse de outros interferentes com elevada afinidade eletrónica. Esta baixa capacidade de distinção impõe uma acentuada pressão sobre a etapa de preparação de amostra,

exigindo que esta seja bastante exaustiva e que consiga remover totalmente os interferentes. Previsivelmente, este nível de limpeza de amostra, para além de ser economicamente dispendioso, nem sempre é possível de alcançar, pelo que, este sistema de análise não costuma ser muito utilizado para a determinação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina.

Relativamente à Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Espectrometria de Massa de Baixa Resolução (*ion trap* ou quadropolo), constata-se que este tipo de sistema permite obter uma boa sensibilidade e seletividade, possuindo ainda a vantagem de ser substancialmente mais barato, que o sistema de espectrometria de massa de alta resolução. A principal desvantagem consiste na impossibilidade de alcançar os níveis de concentração da ordem dos pg/kg de amostra, muitas vezes requeridos para a determinação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em amostras de alimentos.

O sistema de análise por Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Espectrometria de Massa que opere em modo sequencial ou *tandem*, é outra possibilidade a considerar. Este sistema, embora possua boa sensibilidade e melhor seletividade que a espectrometria de massa de baixa resolução, carece da mesma desvantagem, isto é, não permite de alcançar níveis de concentração baixos para os congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Relativamente ao sistema anterior, este equipamento apresenta também a desvantagem de ser relativamente mais dispendioso.

Finalmente resta o equipamento de referência que é comumente utilizado para a identificação e quantificação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com a atividade de dioxina – a Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de Espectrometria de Massa de Alta Resolução. Este sistema possui uma elevada seletividade e sensibilidade, o que possibilita a quantificação dos referidos compostos em níveis de concentração extremamente reduzidos (por exemplo, na ordem dos pg/kg de amostra). Por outro lado, este sistema quando opera em modo de SIR³¹ (*Selected Ion Recording*), permite obter níveis de sensibilidade significativamente elevados, dado que apenas perscruta os iões específicos dos congéneres pretendidos.

Contudo, mesmo com este nível de sofisticação, não existem garantias absolutas relativamente à capacidade de distinguir alguns interferentes dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, pelo que, uma boa purificação do extrato continua a ser um requisito de importância relevante. Por forma a elucidar melhor o que acabou de ser referido, apresenta-se a tabela 2.20.

³¹ Este modo de operação (SIR) é também vulgarmente designado por SIM (*Selected Ion Monitoring*), sendo que em Português, corresponde a modo seletivo de iões.

Tabela 2.20. – Massas moleculares de PCDD/Fs e seus interferentes. [6,9]

Na última coluna desta tabela apresenta-se a resolução⁵¹ necessária que um espectrómetro de massa deve ter para conseguir separar os congêneres 2,3,7,8-TCDD e 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF dos seus interferentes.

COMPOSTO	FÓRMULA MOLECULAR	m/z	RESOLUÇÃO ³² NECESSÁRIA PARA SEPARAR O RESPECTIVO COMPOSTO DO CONGÉNERE 2,3,7,8-TCDD (m/z= 321,8936)
Heptaclorobifenilo	C ₁₂ H ₃ Cl ₇	321,8678	12476
Nonaclorobifenilo	C ₁₂ HCl ₉	321,8491	7234
Tetraclorometoxibifenilo	C ₁₃ H ₈ OCl ₄	321,9299	8868
DDT (isómeros p,p' e o,p')	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	321,9292	9042
DDE (isómeros p,p' e o,p')	C ₁₄ H ₈ Cl ₄	321,9292	
Hidroxitetraclorodibenzofurano	C ₁₂ H ₄ O ₂ Cl ₄	321,8936	Não se consegue separar
COMPOSTO	FÓRMULA MOLECULAR	m/z	RESOLUÇÃO ³² NECESSÁRIA PARA SEPARAR O RESPECTIVO COMPOSTO DO CONGÉNERE 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF (m/z= 407,7818)
Octacloronaftaleno	C ₁₀ Cl ₈	407,7390	9528
Éter difenílico tribromado	C ₁₂ H ₇ Br ₃ O	407,8006	21691
Tribromodibenzofurano	C ₁₂ H ₅ Br ₃ O	407,7829	Não se consegue separar (>370000)

A análise da tabela 2.20 permite concluir, que existem alguns interferentes que não são possíveis de separar com os espectrómetros de massa de alta resolução, mesmo considerando as normais condições de operação definidas pelos Métodos EPA 1613 e EPA 1668, que exigem a análise em modo seletivo de iões (SIM), bem como uma capacidade de resolução instrumental igual ou superior a 10000 (em termos de 10% de definição de vale) [70,71]. Dito de outro modo, para se conseguir separar os congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina de possíveis interferentes é necessário um poder de resolução muito elevado. Atente-se ao exemplo dos compostos tribromodibenzofurano e 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, para os quais se verifica que a resolução necessária para a sua separação num espectrómetro de massa, requer o impressionante valor de 370000 (por este motivo na tabela 2.20 apresenta-se a designação não se consegue separar). Este valor de resolução é elevadíssimo, pelo que, normalmente estes interferentes são separados dos analitos de interesse através de eficazes procedimentos de limpeza de amostra ou por intermédio de uma adequada coluna cromatográfica. Assim, quando os tempos de retenção dos interferentes são diferentes dos analitos de interesse, ainda que a eficácia do procedimento de limpeza seja reduzida, é possível identificar/quantificar os congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina sem problemas acrescidos. Contudo, sempre que a separação cromatográfica for insuficiente e a purificação do extrato não tenha eliminado alguns dos interferentes referidos na tabela 2.20, não é

³² Resolução em espectrometria de massa refere-se à capacidade de separação de duas massas de um detetor de espectrometria de massa, isto é, $R = m_1/(m_1 - m_2)$. Assim, em espectrometria de massa, geralmente utiliza-se o termo “baixa resolução” para fazer referencia a equipamentos que trabalham com resolução inferior a 1000.

possível obter de forma inequívoca a identificação/quantificação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina.

Dadas as especificidades das metodologias analíticas envolvidas, este assunto será focado nos tópicos seguintes.

Bibliografia

- [1] Riget F., Vikelsøeb J., Dietz R. (2005). Levels and temporal trends of PCDD/PCDFs and non-ortho PCBs in ringed seals from East Greenland. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 1523–1529;
- [2] Lignell S., Aune M., Darnerud P., Cnattingius S., Glynn A. (2009). Persistent organochlorine and organobromine compounds in mother's milk from Sweden 1996–2006: Compound-specific temporal trends. *Environmental Research* 109, 760–767;
- [3] Nordlöf U., Helander ., Eriksson U., Zebühr Y., Asplund L. (2012). Comparison of organohalogen compounds in a white-tailed sea eagle egg laid in 1941 with five eggs from 1996 to 2001. *Chemosphere*, 88, 286–291;
- [4] Munschy C., Guiot N., Héas-Moisán K., Tixier C., Tronczyński J. (2008). Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs) in marine mussels from French coasts: Levels, patterns and temporal trends from 1981 to 2005. *Chemosphere*, 73, 945–953.
- [5] Regulamento (UE) N.º 253/2011 da Comissão, de 15 de Março de 2011, que altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho, relativo ao registo, avaliação, autorização e restrição dos produtos químicos (REACH), no que respeita ao anexo XIII. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:069:0007:0012:PT:PDF>, acedido em Setembro de 2011;
- [6] Casanovas J., Rivero I., Ilorens J., Martín M., Fraisse D., Gavinelli M., Cristoforo C., Carlos M., Jiménez B., Rivera J., Espadaler I., Eljarrat E., (1996). Dioxinas y Furanos – Problemática Ambiental y Metodología Analítica. Ministério de Obras Públicas, Transportes y Medio Ambiente – Secretaria de estado de Medio Ambiente y Vivienda Direccion General de Politica Ambiente;
- [7] Ramondetta M., Reposi A. (1998). Seveso – 20 years after. From dioxin to the Oak Wood. Fondazione Lombardia per l'Ambiente;
- [8] Brantner J., Becker R. (1992). A toxicity equivalency factor procedure for estimating 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxins equivalents in mixtures of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and furans". Department of Toxic Substances Control (DTSC), Office of the Science Advisor Guidance – Chapter 9, DIOXIN TEF;
- [9] Catálogo Welligton Laboratories 2009-2010 (Ontario Canadá). Standards for Environmental and Testing Research. <http://www.well-labs.com/products/catalogue.htm>, acedido em Maio de 2011;
- [10] Bureau International des Poids et Mesures – “The International System of Units (SI)”, 8th edition (2006). http://www.bipm.org/en/si/si_brochure/chapter4/table7.html, acedido em Maio de 2011;
- [11] Dryden F., Ensley H., Rossi R., Walk E., Haydel & Associates, Inc. (1980). Assessment of Dioxin-Forming. Industrial Environmental Research Laboratory Office and Development U.S. Environmental Protection Agency (EPA). Volume III – Dioxins;

- [12] Kulka M. (1961). Octahalogenodibenzo-*p*-dioxins. Canadian Journal of Chemistry, 39, 1973-1976;
- [13] Crosby D., Moilanen K., Wong A. (1973). Environmental Generation and Degradation of Dibenzodioxins and Dibenzofurans. Environmental Health Perspectives, 5, 259-266;
- [14] International Programme on Chemical Safety – Environmental Health Criteria 88, Polychlorinated Dibenzo-*para*-dioxins and dibenzofurans. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc88.htm>, acessado em Junho de 2011;
- [15] General Chemistry. http://www.vias.org/genchem/inorgcomp_sodiumcarbonate.html, acesso em Abril de 2011;
- [16] Expert Group on Best Available Techniques and Best environmental Practices, (2003). Development of Guidelines on Best Available Techniques and Provisional Guidance on Best Environmental Practices Relevant to the Provisions of Article 5 and Annex C of the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. Formation of PCDD/PCDF – An Overview, United Nations Environment Programme (UNEP). http://www.pops.int/documents/meetings/bat_bep/1st_session/EGB1_INF10_overview.pdf, acessado em Maio de 2011;
- [17] Taylor P., Lenoir D. (2001). Chloroaromatic formation in incineration process. The Science of Total Environment, 269, 1-24;
- [18] Taylor P., Dellinger B., (1999). Pyrolysis and molecular growth of chlorinated Hydrocarbons. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 49, 9–29;
- [19] Nganai S., Lomnicki S., Dellinger B. (2012). Formation of PCDD/Fs from oxidation of 2-monochlorophenol over an Fe₂O₃/silica surface. Chemosphere, 88, 371–376;
- [20] Altarawneh M., Dlugogorski Z., Kennedy M., Mackie C. (2009). Mechanisms for formation, chlorination, dechlorination and destruction of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs). Progress in Energy and Combustion Science, 35, 245-274;
- [21] Liu W., Zheng M., Wang D., Xing Y., Zhao X., Ma X., Qian Y. (2004). Formation of PCDD/Fs and PCBs in the process of production of 1,4-dichlorobenzene. Chemosphere, 57, 1317–1323;
- [22] Evans C., Dellinger B. (2005). Mechanisms of Dioxin Formation from the High-Temperature Oxidation of 2-Chlorophenol. Environmental Science and Technology, 39, 122-127;
- [23] Liu P.-Y., Zheng M.-H., Xu, X.-B. (2001). Mechanism of PCBs formation from pyrolysis of chlorobenzenes. Chemosphere, 43, 783-785;
- [24] Luo Y.-R. (2003). Handbook of Bond Dissociation Energies in Organic Compounds. CRC Press LLC. LLC, 2nd Edition;
- [25] Ryu J.-Y., Mulholland A. (2005). Metal-mediated chlorinated dibenzo-*p*-dioxin (CDD) and dibenzofuran (CDF) formation from phenols. Chemosphere, 58, 977–988;

- [26] World Chlorine Council (WCC). <http://www.worldchlorine.org/products/index.html>, acedido em Novembro de 2011;
- [27] Vogg H, Stieglitz L. (1986). Thermal Behavior of PCDD/PCDF in Fly Ash from Municipal Incinerators. *Chemosphere*, 15, 1373-1378;
- [28] Mejdoub N., Souizi A., Delfosse L. (1998) Experimental and numerical study of the thermal destruction of hexachlorobenzene. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 47, 77-94;
- [29] Ba T., Zheng M. Zhang B., Liu W., Xiao K., Zhang L. (2009). Estimation and characterization of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs from secondary copper and aluminum metallurgies in China. *Chemosphere*, 75, 1173-1178;
- [30] Stieglitz L., Zwick G., Beck J., Roth W., Vogg H. (1989). On the de novo-Synthesis of PCDD/PCDF on Fly Ash of Municipal Waste Incinerators. *Chemosphere*, 18, 1219-1226;
- [31] Schwarz G., Stieglitz L., Roth W. (1990). Formation Conditions of Several Polychlorinated Compound Classes on Fly Ash of a Municipal Waste Incinerator. *Organohalogen Compounds*, 3, 169-172;
- [32] Kanters J., Louw R. (1996) Thermal and Catalysed Halogenation in Combustion Reactions. *Chemosphere*, 32, 89-97;
- [33] Brantner J., Becker R. (1992). A toxicity equivalency factor procedure for estimating 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxins equivalents in mixtures of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and furans". Department of Toxic Substances Control (DTSC), Office of the Science Advisor Guidance – Chapter 9, DIOXIN TEF. <http://www.dtsc.ca.gov/AssessingRisk/upload/chap9.pdf>, acedido em Setembro de 2011;
- [34] Aoki Y. (2001). Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disruptors--what we have learned from Yusho disease. *Environmental Research*, 86, 2-11;
- [35] Guo Y., Lin C., Yao W., Ryan J., Hsu C. (1994). Musculoskeletal changes in children prenatally exposed to polychlorinated biphenyls and related compounds (Yu-Cheng children). *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 41, 83-93;
- [36] Micheletti C., Critto A., Marcomini A., (2007). Assessment of ecological risk from bioaccumulation of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in a coastal lagoon. *Environmental International*, 33, 45-55;
- [37] Tuyet-Hanh T., Vu-Anh L., Ngoc-Bich N., Tenkate T. (2010). Environmental Health Risk Assessment of Dioxin Exposure through Foods in a Dioxin Hot Spot — Bien Hoa City, Vietnam. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7, 2395-2406;

- [38] Geyer H., Schramm K-W., Feicht E., Behechti A., Steinberg C., Brüggemann R., Poiger H., Henkelmann B., Kettrup A. (2002). Half-lives of tetra-, penta-, hexa-, hepta-, and octachlorodibenzo-*p*-dioxin in rats, monkeys, and humans—a critical review. *Chemosphere*, 48, 631–644;
- [39] Choi W. , Hong S., Chang Y., Cho Y. (2000). Photocatalytic Degradation of Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins on TiO₂ Film under UV or Solar Light Irradiation. *Environmental Science. Technology*, 34, 4810-4815;
- [40] U.S. National Library of Medicine National Institutes of Health. <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidlite.jsp>, acedido em junho de 2011;
- [41] Eisler R., Belisle A. (1996). Planar PCB Hazards to Fish, wildlife, and Invertebrates a Synoptic Review. Patuxent Wildlife Research Center U.S. National Biological Service Laurel, Contaminant Hazard Reviews – Report n.º 31;
- [42] Carpenter D. (2006). Polychlorinated Byphenils (PCBs): Routes of Exposure and Effect on Human Health. *Reviews on Environmental Health*, 21, 1-23;
- [43] Heidelore Fieldler – Bavarian Institute for Waste Researche.12 Polichlorinated Biphenyls (PCBs): Uses and Environmental Releases, Germany. http://www.chem.unep.ch/pops/pops_inc/proceedings/cartagena/FIEDLER1.html, acedido em Agosto de 2011;
- [44] Environmental issue report N.º 22. (2001). Late lessons from early warnings: the precautionary principle 1896–2000. European Environment Agency. http://www.eea.europa.eu/publications/environmental_issue_report_2001_22, acedido em Agosto de 2011;
- [45] Parthasarathi R., Padmanabhan J., Subramanian V., Chattaraj P. (2003). *Journal of Physical Chemistry A*, 107, 10346-10352;
- [46] Borja J., Taleon D., Auresenia J., Gallardo S. (2005). Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry*, 40, 1999–2013;
- [47] WHO European Centre for Environment and Health International (1998). Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI) WHO Consultation, May 25-29 1998, Geneva, Switzerland;
- [48] Berg M., Birnbaum L., Bosveld A., Brunström B., Cook P., Feeley M., Giesy J., Hanberg A., Hasegawa R., Kennedy S., Kubiak T., Larsen J., Leeuwen F., Liem A., Nolt C., Peterson R., Poellinger L., Safe S., Schrenk D., Tillitt D., Tysklind M., Younes M., Waern F, ZacharewskiVan T.. (1998). Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and Wildlife. *Environmental Health Perspectives*, 106, 775–792;
- [49] Berg M., Birnbaum L., Denison M., Vito M., Farland W., Feeley M., Fiedler H., Hakansson H., Hanberg A., Haws L., Rose M., Safe S., Schrenk D., Tohyama C., Tritscher A., Tuomisto J., Tysklind M., Walker N., Peterson R. (2006). The 2005 World Health Organization Reevaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-Like Compounds Dioxin-Like Compounds. *Toxicological Sciences*, 93, 223-241;

- [50] Arctic Monitoring and Assessment Programme - Arctic Pollution Issues (1998) - Chapter 6: Persistent Organic Pollutants (POPs). Concentration (pg/g dw) profiles for octachlorodioxin (OCDD) and total PCDD/Fs in dated sediment cores from Arctic Canada and Finland Sum-PCDD/Fs = sum of 2,3,7,8-substituted tetra- to octachloro D/Fs plus non-2,3,7,8-substituted congeners. <http://www.amap.no>, acedido em Agosto de 2011;
- [51] Arctic Monitoring and Assessment Programme - Arctic Pollution Issues (1998) - Chapter 6: Persistent Organic Pollutants (POPs). Body concentrations of PCDD/F and non-*ortho* and mono-*ortho* PCBs as TCDD equivalents (pg/g lw) in Arctic mammals compared to thresholds for immunosuppression in harbor seal for the same combinations of substances analyzed. <http://www.amap.no>, acedido em Agosto de 2011;
- [52] Arctic Monitoring and Assessment Programme - Arctic Pollution Issues (1998) - Chapter 6: Persistent Organic Pollutants (POPs). Levels of PCB congeners and PCDD/Fs (ng/g lw) in Lake Storvindeln pike muscle between 1968 and 1992. <http://www.amap.no>, acedido em Agosto de 2011;
- [53] Schecter A., Cramer P., Boggess K., Stanley J., Päpke O., Olson J, Silver A., Schmitz M. (2001). Intake of Dioxins and Related Compounds from Food in the U.S. Population. Journal of Toxicology and Environmental Health A, 63, 1–18;
- [54] A Nova Roda dos Alimentos – Um guia para a escolha alimentar diária. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto, Instituto do Consumidor e Programa Operacional Saúde XXI. http://escolovar.org/alimenta_roda_dgs.pdf, acedido em Setembro de 2011;
- [55] United Nations Economic and Social Council. (2002). Health Risks of Persistent Organic Pollutants from long-range Transboundary air Pollution. Report EB.AIR/WG.1/2002/14, <http://www.unece.org/fileadmin/DAM/env/documents/2002/eb/wg1/eb.air.wg.1.2002.14.e.pdf>, acedido em 20 de Maio de 2011;
- [56] Agência Portuguesa do Ambiente (2010). Plano Nacional de Implementação da Convenção de Estocolmo – Janeiro de 2010;
- [57] Umweltbundesamt for our Environment (2010). Background – June 2010, Dioxins, Section IV 1.1 Postfach 1406. <http://www.umweltdaten.de/chemikalien/dioxine-e.pdf>, acedido em Setembro de 2011;
- [58] Decreto-Lei n.º 103/2010, de 24 de Setembro, que estabelece as Normas de Qualidade Ambiental (NQA) para as substâncias prioritárias e para outros poluentes. <http://dre.pt/pdf1sdip/2010/09/18700/0428904296.pdf>, acedido em Julho de 2011;
- [59] União europeia (2002). Decisão da Comissão de 12 de Agosto de 2002 que dá execução ao disposto na Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:221:0008:0036:PT:PDF>, acedido em Outubro de 2011;
- [60] Pombeiro A. (1991). Técnicas e Operações Unitárias em Química Laboratorial. Fundação Caloust Gulbenkian, 2.ª Edição;

- [61] Aslan S., Korucu M., Karademir A., Durmusoglu E. (2010). Levels of PCDD/Fs in local and non-local food samples collected from a highly polluted area in Turkey. *Chemosphere*, 80, 1213–1219;
- [62] Schecter A., Cramer P., Boggess K., Stanley J., Olson j. (1997). Levels of Dioxins, Dibenzofurans, PCB and DDE Congeners in Pooled Food Samples Collected in 1995 at Supermarkets Across the United States. *Chemosphere*, 34, 1437-1447;
- [63] Jonsson S., Lind H., Lundstedt S., Haglund P., Tysklind M. (2010). Dioxin removal from contaminated soils by ethanol washing. *Journal of Hazardous Materials*, 179, 393–399;
- [64] Kiguchi O., Saitoh K., Ogawa N. (2007). Simlutaneous extraction of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and coplanar polychlorinated biphenyls from contaminated soil using pressurized liquid extraction. *Journal Of Chromatography*, 1144, 262-268;
- [65] Richter B., Ezzel J., Knowles D., Hoefler F. (1997). Extraction of Polychlorinated Dibenzo-*p*-Dioxins and Polychlorinated Dibenzofurans from Environmental Samples Using Accelareted Solvent Extraction (ASE). *Chemosphere*, 34, 975-987;
- [66] Yusá V., Pastor A., Guardia M. (2005). Microwave-assisted extraction of OCPs, PCBs, and PAHs concentrated by semi-permeable membrane devices (SPMDs). *Analytica Chimia Acta*, 540, 355-366;
- [67] Kawashima A, Watanabe S, Iwakiri R, Honda K. (2009). Removal of dioxins and dioxin-like PCBs from fish oil by countercurrent supercritical CO₂ extraction and activated carbon treatment. *Chemosphere*, 75, 788-94;
- [68] Dolezal I., Segebarth K., Zennegg M., Wunderli S. (1995). Comparation between supercritical fluid extraction (SFE) using carbon dioxin/acetone and convention Soxhlet extraction with toluene for subsquent determination of PCDD/PCDF in a single electrofilter ash sample. *Chemosphere*, 31, 4013-4024;
- [69] Larsen B., Bøwadt S., Tilio R., Facchetti S. (1992). Choice of GC column phase for analysis of toxic PCBs. *Chemosphere*, 25, 1343–1348;
- [70] Method 1613, Revision B (1994). Tetra- through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS. U.S. Environmental Protection Agency Office of Water Engineering and Analysis Division;
- [71] Method 1668B (2008). Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, Biosolids, and Tissue by HRGC/HRMS. U.S. Environmental Protection Agency Office of Water Office of Science and Technology Engineering and Analysis Division;

EXPERIMENTAL

3.1. OBJETIVOS

O objetivo principal deste programa doutoral consistiu em desenvolver e sistematizar procedimentos de preparação de amostra na determinação de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Para o efeito, foram implementados e validados os procedimentos analíticos necessários para a determinação desses compostos em amostras ambientais com diferentes matrizes (sedimentos, lamas, solos, biota, alimentos e tecidos).

Como objetivo secundário, ficou estabelecido que após o desenvolvimento das ferramentas analíticas necessárias para a caracterização das amostras, seriam desenvolvidos programas de monitorização, por forma a avaliar o estado de diferentes sistemas ambientais.

3.1.1. MATERIAIS E EQUIPAMENTO

Foram desenvolvidas metodologias analíticas para a análise de dois tipos distintos de amostras, isto é, para amostras de cariz sólido (sedimentos, lamas, solos, biota, alimentos e tecidos) e para amostras com matriz de natureza gasosa (efluentes gasosos de fontes fixas e ar atmosférico). Para a implementação das metodologias referidas foram utilizados diversos materiais e equipamentos, tais como, solventes, reagentes, materiais de referência certificados (MRC), padrões, balanças, sistemas de extração, sistemas de concentração, cromatógrafos gasosos, entre outros. Seguidamente apresenta-se uma lista, onde se discriminam os materiais utilizados, bem como os respetivos equipamentos.

Solventes e reagentes

1. Tolueno (*Merck Pesticide Grade*);
2. Acetona (*Merck Pesticide Grade*);
3. Hexano (*Merck Pesticide Grade*);
4. Diclorometano (*Merck Pesticide Grade*);
5. Acetato de Etilo (*Merck Pesticide Grade*);
6. Ácido Sulfúrico (*Merck Pesticide Grade*);
7. Ácido Clorídrico (*Merck Pesticide Grade*);
8. Sulfato de sódio anidro (*Panreac*);
9. Cobre metálico em pó (*Merck pa*, <230 mesh);
10. Colunas de limpeza de sílica (19 cm), alumina (11 g, 19 cm) e carvão ativado (0.34 g, 4 cm);
11. Cartuchos de celulose (*Whatman*, 30mm×80 mm – *Schleicher & Schuell*);
12. Filtros de fibra de vidro (*Startorius*, 110 mm GMF *grade*) e espuma de poliuretano;

Padrões e Materias de Referência e Materiais de Referência Certificados

1. Padrão EPA-1613PAR (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
2. Padrão interno EPA-1613LCS (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
3. Padrão interno EPA-1613ISS (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
4. Padrões de calibração EPA-1613CSL e CS1 a CS5 (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
5. Padrão WP-STK (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
6. Padrão interno WP-LCS (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
7. Padrão interno WP-ISS (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
8. Padrões de calibração WP-CS1 a CS7 (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
9. Padrão interno EN1948SS (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
10. Padrão interno EN1948ES (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
11. Padrão interno EN1948IS (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
12. Padrões de calibração EN1948CS1 a CS6 (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
13. Sedimento Certificado DX-1 (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
14. Sedimento Certificado WMS-01 (*Wellington Laboratories, Ontário, Canadá*);
15. Solo Certificado CRM 529 (*Community Bureau of Reference – European Commission*);

Equipamentos

1. Evaporador rotativo (*Büchi R-200*, com banho de aquecimento da marca *Büchi B-490* e sistema de controlo de vácuo da marca *Büchi B-721, Vac-513*);
2. Balanças analíticas de classe I e II (*Merck*);
3. Moínho de mandíbulas (*Büchi*, mixer *B-400*) e peneiro;
4. Tubos de extração por soxhlet e mantas de aquecimento (*Selecta*);
5. Estufa de secagem (*Selecta*) e liofilizador (*Labconco*);
6. Sistema de extração de amostras ASE (*Dionex 200*);
7. Sonda de ultra-sons (*Hielscher Ultrasonud Technology*);
8. Banho de ultra-sons (*Ultrasonic 60 LARRE*);
9. Vortéx (*Genie*);
10. Sistema automático de limpeza de amostras (*PowerPrep/FMS – Fluid Management System*);
11. Sistemas de evaporação sob corrente de azoto;
12. Cromatógrafo Gasoso (*Agilent 6890 Series*) acoplado a um Espectrómetro de Massa de Alta Resolução (*Micromass AutoSpec-Ultima*);
13. Coluna cromatográfica capilar VF-5MS (*Varian*, com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme);
14. Coluna cromatográfica capilar DB-DIOXIN (*J & W Scientific*, com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,15 µm de espessura de filme).

3.1.2. DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS

Relativamente à determinação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em amostras de sólidos, foram desenvolvidas metodologias analíticas baseadas na aplicação dos métodos EPA 1613 (*Tetra-through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS*) e EPA 1668B (*Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, Biosolids, and Tissue by HRGC/HRMS*), respetivamente para a análise dos 17 congéneres de PCDD/Fs clorados nas posições 2,3,7,8 e dos 12 PCBs com atividade de dioxina [1,2].

Embora os citados métodos mencionem alguns procedimentos de desidratação, refere-se contudo mais uma vez, que a generalidade das amostras de sólidos necessita de dois passos prévios antes da etapa de extração dos analitos. O primeiro passo consiste na remoção da água existente nas amostras, uma vez, que a sua presença condiciona a extração dos congéneres. Para o efeito, foi implementada uma técnica de liofilização adequada, segundo a qual, as amostras eram previamente congeladas à temperatura de -40°C e, posteriormente, liofilizadas num equipamento da marca Labconco durante 48 a 72 horas. O segundo passo, que se realiza imediatamente após a etapa de liofilização, consiste em reduzir o grão da amostra (através de moagem ou peneiração), por forma, a tornar a extração um processo mais eficiente. Assim, após estes dois procedimentos, retira-se uma toma de amostra (seca e moída/peneirada) e procede-se para a etapa de extração.

No que respeita à determinação analítica dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em amostras de efluentes gasosos, foi desenvolvida uma metodologia baseada na aplicação da Norma Portuguesa (NP) EN 1948 – Partes 1, 2 e 3, “Emissões de fontes fixas – Determinação da concentração mássica de PCDDs/PCDFs, Parte 1 – Amostragem, Parte 2 – Extração e purificação e Parte 3 – Identificação e quantificação” [3,4,5].

Salienta-se também, que sempre que os efluentes gasosos possuam elevados teores de humidade, é também necessária uma etapa de desidratação dos adsorventes sólidos que foram utilizados durante a amostragem, antes da extração dos analitos. Assim, para esse efeito, usualmente colocam-se os adsorventes numa estufa, à temperatura de 50°C, durante 24 a 48 horas ou até que a sua massa permaneça constante.

A implementação da determinação analítica dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, iniciou-se com a validação os métodos desenvolvidos. Deste modo, e durante o estudo desenvolvido, foram efetuados ensaios de extração utilizando diferentes solventes orgânicos, diversos MRC, bem como vários processos de extrativos.

Salienta-se também, que para a validação das metodologias implementadas para as amostras gasosas, foram realizados ensaios de extração, nos quais, adsorventes sólidos isentos de analito foram fortificados com congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade. Esta técnica foi útil e expedita, uma vez, que permitiu simular o resultado de uma ação de amostragem realizada numa fonte fixa.

Genericamente, os procedimentos analíticos implementados para a determinação de congéneres PCDD/Fs e PCBs com atividade, nas diferentes amostras com matriz sólida ou gasosa, seguem o seguinte esquema:

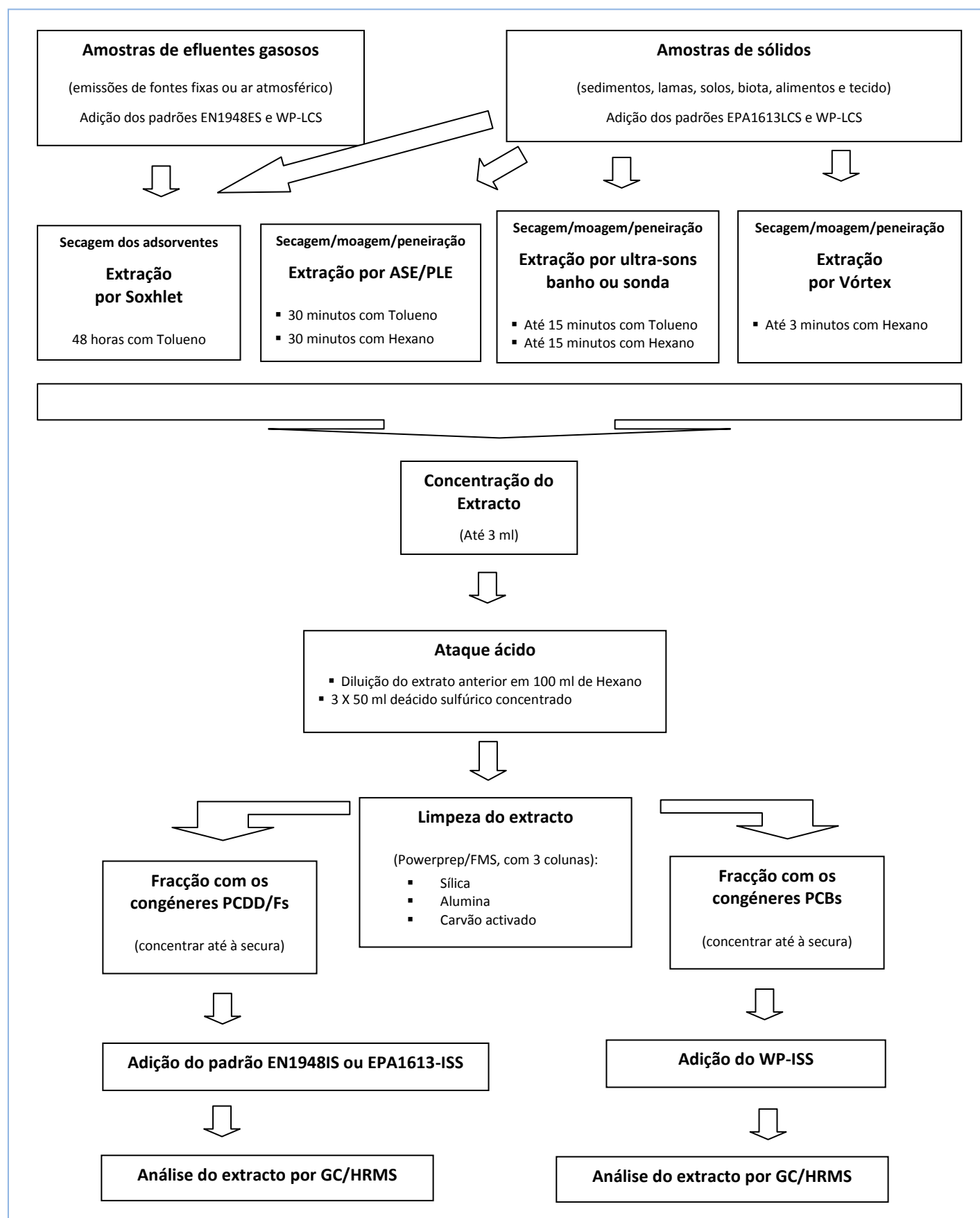


Figura 3.1. – Esquema simplificado das etapas envolvidas na determinação analítica de PCDD/Fs e PCBs.

3.1.2.1. MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRA

3.1.2.1.1. SOXHLET

Esta técnica extrativa, de largo espectro de aplicação, pode ser utilizada para extrair amostras de matriz sólida, bem como os adsorventes sólidos que são usados na amostragem de amostras gasosas (efluentes ou ar atmosférico). Neste sentido, segue-se a descrição dos procedimentos analíticos inerentes às duas possibilidades.

Amostras de sólidos (sedimentos, lamas, solos, biota, alimentos e tecidos)

Para este tipo de amostras, a metodologia analítica inicia-se com a pesagem num cartucho de celulose de uma toma de amostra (seca e moída/peneirada). Foi utilizada uma balança analítica de classe I e uma toma de 10 g de amostra, por forma a alcançar a gama de quantificação pretendida.

Posteriormente colocou-se o cartucho com o seu conteúdo num tubo extrator de Soxhlet e adicionou-se ao tubo, 5 ml de acetona previamente fortificados com os padrões de extração (EPA-1613LCS e WP-LCS). Esta adição foi efetuada com cuidado, por forma, a garantir que a solução acetona/padrões fosse depositada uniformemente sobre toda a amostra do cartucho. Assim, para minimizar as perdas resultantes da preparação da solução acetona/padrões, lavou-se o recipiente onde a solução foi preparada com nova toma de 5 ml de acetona, sendo que também este volume foi depositado uniformemente sobre o cartucho. Deixou-se repousar a mistura durante 30 minutos e, procedeu-se, a uma extração por Soxhlet com 350 ml de tolueno, durante um período de 48 horas.

Após a extração por Soxhlet, concentrou-se o extrato num evaporador rotativo até um volume de cerca de 3 ml. Salienta-se também, que as condições de pressão e temperatura otimizadas para a evaporação do tolueno foram as seguintes; pressão do vácuo de 160 mbar e temperatura do banho de 60°C.

Adicionou-se 100 ml de hexano e voltou-se a concentrar o extrato até 3 ml (as condições de pressão e temperatura otimizadas para a evaporação do hexano foram as seguintes; pressão do vácuo de 600 mbar e temperatura do banho de 60°C). Posteriormente seguiu-se a etapa de limpeza do extrato.

Amostras de efluentes gasosos (emissões de fontes fixas)

Relativamente a este tipo de amostras, os adsorventes sólidos utilizados nas ações de amostragem (espuma de poliuretano PUF ou resina XAD-2), foram previamente fortificados com o padrão de amostragem EN1948SS. Esta operação tem por objetivo avaliar o desempenho da etapa de amostragem, uma vez, que se conhece a massa de congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina que é adicionada aos adsorventes.

Assim, após a ação de amostragem, são obtidas três frações distintas que podem ser classificadas do seguinte modo:

1. A fração sólida – é constituída pelo filtro de fibra de vidro, pela XAD-2 ou PUF (consoante a variante utilizada) e pela lã de vidro (normalmente, utiliza-se embebida em solvente, para auxiliar a lavagem do trem de amostragem).

Após a amostragem o equipamento e os adsorventes foram identificados, acondicionados e transportados para o laboratório. O tratamento laboratorial envolveu uma operação de secagem, sempre que a PUF ou a XAD-2, se apresentassem húmidas. Para esse efeito, os adsorventes eram colocados numa hotte durante várias horas, à temperatura ambiente, ou caso o teor de água fosse muito elevado, colocavam-se numa estufa com circulação de ar, à temperatura de 50°C.

Relativamente ao filtro, se este apresentasse pouco depósito na sua superfície (quantidade de partículas inferior a 1 mm), ele era colocado numa caixa de petri e embebia-se a sua superfície com 3 ml de ácido clorídrico (3% em v/v). Posteriormente deixava-se secar o filtro à temperatura ambiente durante um período de duas horas, por forma a permitir a incorporação do ácido. Se o filtro apresentasse um depósito de partículas muito elevado (quantidade de partículas superior a 1 mm), procedia-se de modo análogo ao de uma amostra sólida, isto é, efetuava-se uma extração por Soxhlet do binómio filtro/depósito.

Após as operações de desidratação, o filtro (seco), a PUF ou XAD-2 (secas) e a lã de vidro foram colocados num tubo extrator por Soxhlet e adicionou-se ao tubo, 5 ml de acetona previamente fortificados com os padrões de extração (EN1948ES e WP-LCS). Esta adição foi efetuada com cuidado, por forma, a garantir que a solução acetona/padrões fosse depositada uniformemente sobre toda a amostra do cartucho. Assim, para minimizar as perdas resultantes da preparação da solução acetona/padrões, lavou-se o recipiente onde a solução foi preparada com nova toma de 5 ml de acetona, sendo que também este volume foi depositado uniformemente sobre o cartucho. Deixou-se repousar a mistura durante 30 minutos e, procedeu-se, a uma extração por Soxhlet com 350 ml de tolueno, durante um período de 48 horas;

2. A fração líquida aquosa – é constituída pela água condensada durante a ação de amostragem e que foi recolhida para um frasco de condensados. O tratamento laboratorial desta fração consistiu numa extração líquido-líquido com diclorometano. Neste sentido, foram efetuadas quatro extrações sucessivas utilizando 20 ml de diclorometano, em cada uma delas. As extrações tiveram a duração unitária de 3 minutos, e o diclorometano antes de ser colocado na ampola de decantação foi passado pelo frasco de condensados, de modo a garantir uma boa recuperação dos analitos;
3. A fração líquida orgânica – é constituída pelos solventes utilizados na limpeza do material de vidro usado durante a ação de amostragem. Estes solventes (tolueno e acetona) foram combinados, e reduziu-se o seu volume, até cerca de 50 ml num evaporador. Após a evaporação, os solventes de lavagem foram combinados com os extratos orgânicos das frações anteriores. Posteriormente seguiu-se a etapa de limpeza do extrato.

3.1.2.1.2. ASE/PLE

Este tipo de técnica extrativa apenas foi implementado para utilização na extração de amostras com matriz sólida.

No âmbito do Programa Doutoral, este procedimento extrativo teve início com pesagem de uma toma de amostra (seca e moída/peneirada), para uma célula de aço inoxidável adequada ao sistema de extração ASE da marca Dionex 200. Salienta-se também, que previamente à pesagem, a célula havia sido preparada com terra de diatomáceas. Foi utilizada uma balança analítica de classe I e uma toma de 5 g, por forma a alcançar a gama de quantificação pretendida. Antes de se fechar a célula foram adicionados 0,5 ml de acetona previamente fortificados com os padrões de extração (EPA-1613LCS e WP-LCS). Esta adição foi efetuada com cuidado, por forma, a garantir que a solução acetona/padrões fosse depositada uniformemente sobre toda a amostra da célula. Assim, para minimizar as perdas resultantes da preparação da solução acetona/padrões, lavou-se o recipiente onde a solução foi preparada com nova toma de 0,5 ml de acetona, sendo que também este volume foi depositado uniformemente sobre a superfície da amostra exposta. Deixou-se repousar a mistura durante 30 minutos e adicionou-se mais terra de diatomáceas, de modo a preencher o restante volume morto na parte superior da célula. Fechou-se a célula e procedeu-se a uma extração por ASE com três ciclos extrativos (nas condições de pressão e temperatura otimizadas para 12,4MPa e 150°C), utilizando como solventes o hexano ou tolueno.

Após a extração, recolheu-se o extrato (cerca de 30 ml), e concentrou-se o mesmo, até um volume de cerca de 3 ml num evaporador rotativo. Salienta-se também, que as condições de pressão e temperatura otimizadas para a evaporação do tolueno e do hexano foram respetivamente; pressão do vácuo de 160 mbar/temperatura do banho de 60°C e pressão do vácuo 600 mbar/temperatura do banho de 60°C. Posteriormente seguiu-se a etapa de limpeza do extrato



Figura 3.2. – Sistema de extração de amostras sólidas ASE da marca Dionex 200.

3.1.2.1.3. ULTRA-SONS (BANHO/SONDA) E VÓRTEX

Durante o Programa Doutoral, foram também validadas e implementadas as metodologias analíticas de extração de congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, por intermédio das técnicas de ultra-sons (banho ou sonda) e vórtex. Este procedimento iniciou-se com a pesagem, num tubo de polipropileno, de uma toma amostra (seca e moída/peneirada). Foi utilizada uma balança analítica de classe I e uma toma de 2 g, por forma a alcançar a gama de quantificação pretendida. Em seguida, adicionou-se o tubo e o seu conteúdo 1 ml de acetona, previamente fortificada com os padrões de extração (EPA-1613LCS e WP-LCS). Esta adição foi efetuada com cuidado, por forma, a garantir que a solução acetona/padrões fosse depositada uniformemente sobre toda a amostra do tubo. Assim, para minimizar as perdas resultantes da preparação da solução acetona/padrões, lavou-se o recipiente onde a solução foi preparada com nova toma de 1 ml de acetona, sendo que também este volume foi depositado uniformemente sobre a amostra.

Deixou-se repousar a mistura durante 30 minutos e procedeu-se a uma extração com 5 ml de hexano (durante 30, 135 ou 300 segundos), utilizando para o efeito cada um dos seguintes equipamentos; banho de ultra-sons (potência de ultra-sons de 80-195 W, frequência de ultra-sons de 28-34 kHz e potência de aquecimento de 200 W), sonda de ultra-sons (potência de ultra-sons 100 W e frequência de ultra-sons de 30 kHz) ou Vórtex.

Finalizada a extração, o solvente orgânico foi separado da amostra por centrifugação (durante 2 minutos e à velocidade de 2500 rpm – rotações por minuto). Para garantir uma boa eficiência na recuperação dos padrões de extração, após a primeira centrifugação e a subsequente remoção do solvente inicial, a amostra foi novamente lavada com duas tomas de 5 ml de hexano. Tornou-se a separar o solvente da amostra utilizando a centrifugação e juntaram-se as três frações de 5 ml de hexano. Concentrou-se este extrato num evaporador rotativo até um volume de cerca de 3 ml. Salienta-se também, que as condições de pressão e temperatura otimizadas para a evaporação do hexano foram as seguintes; pressão do vácuo de 600 mbar e temperatura do banho de 60°C.

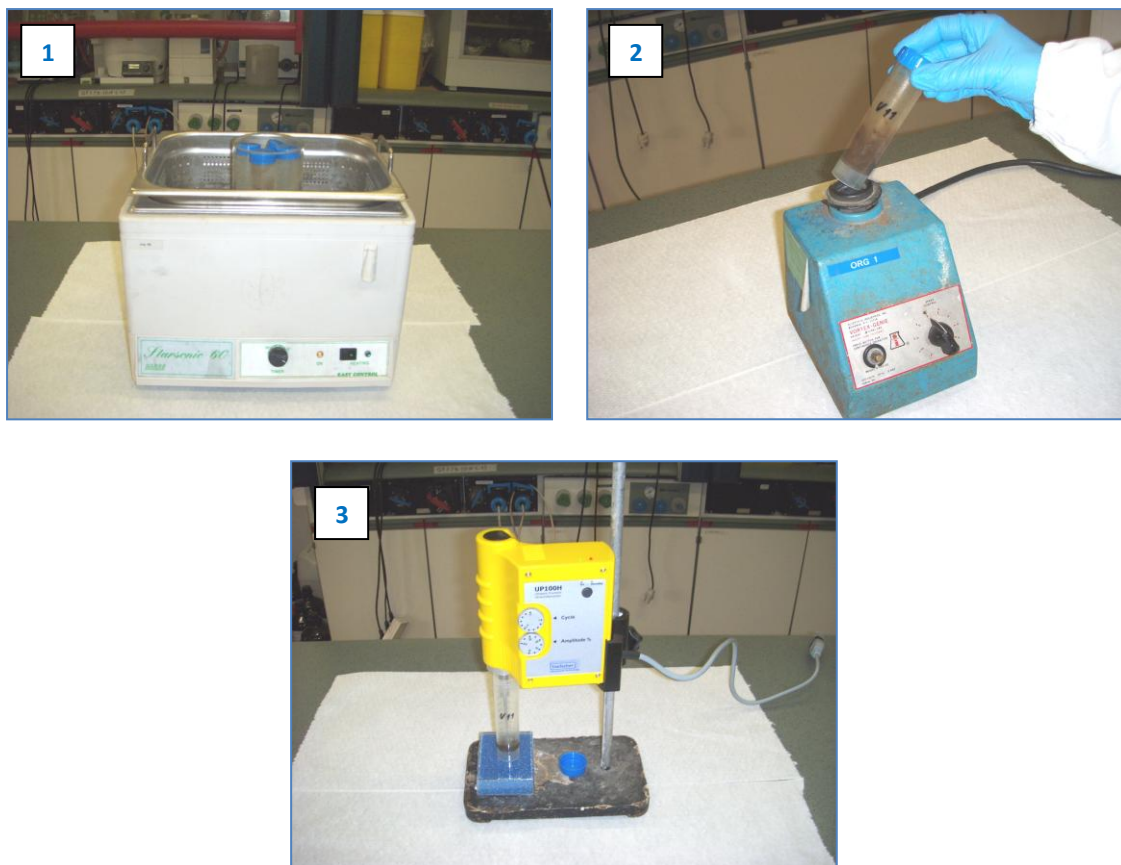


Figura 3.3. – Equipamentos de extração de amostras sólidas (1 – Banho de ultra-sons, 2 – Vórtex e 3 – sonda de ultra-sons).

1 – Banho de ultra-sons da marca Ultrasonic 60 LARRE (potência de ultra-sons de 80-195 W, frequência de ultra-sons de 28-34 kHz e potência de aquecimento de 200 W), 2 – Vórtex da marca Genie e 3 – Sonda de ultra-sons da marca Hielscher Ultrasound Technology (potência de ultra-sons 100 W e frequência de ultra-sons de 30 kHz).

Posteriormente seguiu-se a etapa de limpeza do extrato.

3.1.2.2. LIMPEZA DAS AMOSTRAS

O procedimento de limpeza de extrato que foi desenvolvido e implementado durante o Programa Doutoral, é idêntico quer estejamos a tratar de amostras sólidas ou gasosas.

Assim, os extratos provenientes da etapa de extração foram transferidos para uma ampola de decantação. Para minimizar as perdas de analito durante esta operação, foi tomado o cuidado, de lavar o balão onde o extrato estava contido com três tomas de 33 ml de hexano “fresco”.

Posteriormente procedeu-se a um ataque ácido, adicionando 50 ml de ácido sulfúrico concentrado (98% p/p) ao extrato da ampola de decantação. Agitou-se a ampola durante 30 segundos e deixou-se repousar a mistura por 24 horas. Removeu-se a fase aquosa por decantação, e repetiu-se o ataque com novas tomas de ácido, até a fase aquosa ficar livre de turvação. O extrato foi passado por um filtro com 1 μm de poro, e procedeu-se, a uma limpeza dos interferentes no sistema

Powerprep/FMS, isto é, efetuou-se um *clean-up* multi-colunas (purificação com três colunas – sílica, alumina e carvão ativado). No final da limpeza obtiveram-se dois extratos, designadamente um primeiro constituído por 75 ml de tolueno contendo os congêneres de PCDD/Fs, e outro composto por 180 ml de mistura binária de hexano/diclorometano, que continha os congêneres de PCBs com atividade de dioxina.



Figura 3.4. – Sistema de limpeza de amostras da marca Powerprep/FMS (*Fluid Management System*).

3.1.2.3. SEPARAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Após a operação de limpeza obtiveram-se dois de extratos distintos, respetivamente um com os congêneres de PCDD/Fs e outro com os PCBs com atividade de dioxina. Ambos os extratos foram concentrados até um volume de cerca 3 ml, tendo sido posteriormente transferidos em separado e em várias porções, para dois *vials* de 300 μ l (receptivamente, um com os PCDD/Fs e outro com os PCBs com atividade de dioxina). De modo a permitir depositar totalmente os 3 ml de cada extrato nos *vials*, após cada adição de extrato, o conteúdo dos *vials* foi lentamente evaporado sob corrente de azoto.

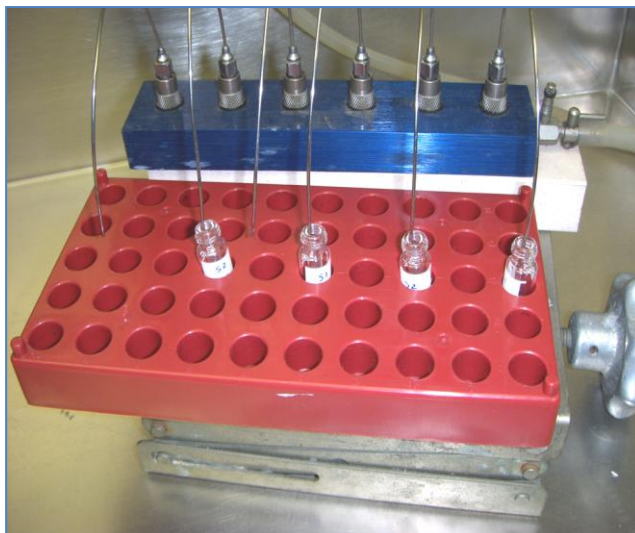


Figura 3.5. – Sistemas de evaporação de amostra em *vial* sob corrente de azoto.

Após ter sido transferida a totalidade de cada extrato para os respetivos *vials*, evaporou-se o conteúdo destes até à secura. Posteriormente adicionaram-se os respetivos padrões internos, do seguinte modo:

Amostras de matriz com sólida

Ao *Vial* com os congéneres de PCDD/Fs foi o adicionado o padrão interno EPA1613ISS;

Ao *Vial* com os congéneres de PCBs com atividade de dioxina foi adicionado o padrão interno WP-ISS.

Amostras de matriz gasosa

Ao *Vial* com os congéneres de PCDD/Fs foi o adicionado o padrão interno EN1948IS;

Ao *Vial* com os congéneres de PCBs com atividade de dioxina foi adicionado o padrão interno WP-ISS.

Finalmente, a separação, identificação e quantificação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, foi efetuada através da utilização de um Cromatógrafo Gasoso (*Agilent 6890 Series*), equipado com injetor automático, o qual estava acoplado a um Espectrómetro de Massa de Alta Resolução (*Micromass AutoSpec-Ultima*). A separação cromatográfica foi conseguida através da utilização de uma coluna capilar VF-5MS da marca *Varian*, com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de filme (60 m x 0,25 mm x 0,25 μm). Para gás de arraste utilizou-se o hélio, com uma velocidade linear de 35 cm s^{-1} , sendo a injeção efetuada no modo sem repartição de amostra (também, vulgarmente designado por *splitless*). Contudo salienta-se também, que para a separação seletiva de alguns congéneres dos PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em amostras de MRC, foi também utilizada uma coluna cromatográfica capilar DB-DIOXIN da marca J & W *Scientific*, com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,15 μm de espessura de filme (60 m x 0,25 mm x 0,15 μm).

As temperaturas do injetor e da interface foram otimizadas nos 280°C, e o programa de temperatura, consistiu na mesma sequência de rampas para as duas famílias de compostos,

nomeadamente a dos PCDD/Fs e a dos PCBs com atividade de dioxina (duas análises em separado), de acordo com a tabela 3.1.

Tabela 3.21. – Programa de temperatura utilizado para a separação cromatográfica de PCDD/Fs e PCBs.

TEMPO (MINUTOS)	RAZÃO DE AUMENTO DE TEMPERATURA (°C/MINUTO)	TEMPERATURA (°C)
0	0	140
1	20	200
14	3	300
50	0	300

3.1.1.1.1. ESPETROMETRIA DE MASSA DE ALTA RESOLUÇÃO

A análise por espectrometria de massa foi efetuada através da utilização do método da diluição isotópica. Este método consiste a adição de quantidades conhecidas de isómeros de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, marcados com átomos de carbono-13, em diferentes etapas da determinação analítica (amostragem, extração e injeção). Deste modo, existindo uma relação linear entre sinal registado pelo detetor e o incremento da massa dos congéneres ao longo da gama de concentrações da calibração, é possível determinar os fatores de resposta relativa (FRR ou do inglês, *Relative Response Factor*). O FRR é um parâmetro que relaciona com o sinal obtido pelo espectrómetro de massa, para um determinado PCDD/F ou PCB com atividade de dioxina na forma nativa, com o sinal obtido para o mesmo isómero na forma isotópica marcada (ou seja, na forma em que os seus átomos de carbono são de carbono-13). Assim, esta relação linear pode ser descrita pela equação apresentada na figura 3.6.

$$FRR = \frac{[A1_n(^{12}C) + A2_n(^{12}C)] \times C_m(^{13}C)}{[A1_m(^{13}C) + A1_m(^{13}C)] \times C_n(^{12}C)}$$

Figura 3.6. – Equação para a obtenção dos Fatores de Resposta Relativa.

Nesta equação, os termos $A1_n(^{12}C)$, $A2_n(^{12}C)$ e $A1_m(^{13}C)$, $A2_m(^{13}C)$ correspondem às áreas dos picos dos congéneres nativos e marcados, respetivamente (valor do sinal m/Z). Os termos $C_n(^{12}C)$ e $C_m(^{13}C)$ correspondem às concentrações dos respetivos congéneres (nativos e marcados) nos padrões da calibração.

De modo a ser mais entendível o significado das incógnitas da equação anterior, apresenta-se a figura 3.7, na qual se pode visualizar uma das janelas cromatográficas obtida no sistema GC/HRMS, designadamente a separação dos congéneres hexaclorados dos dibenzofuranos (HxCDFs).

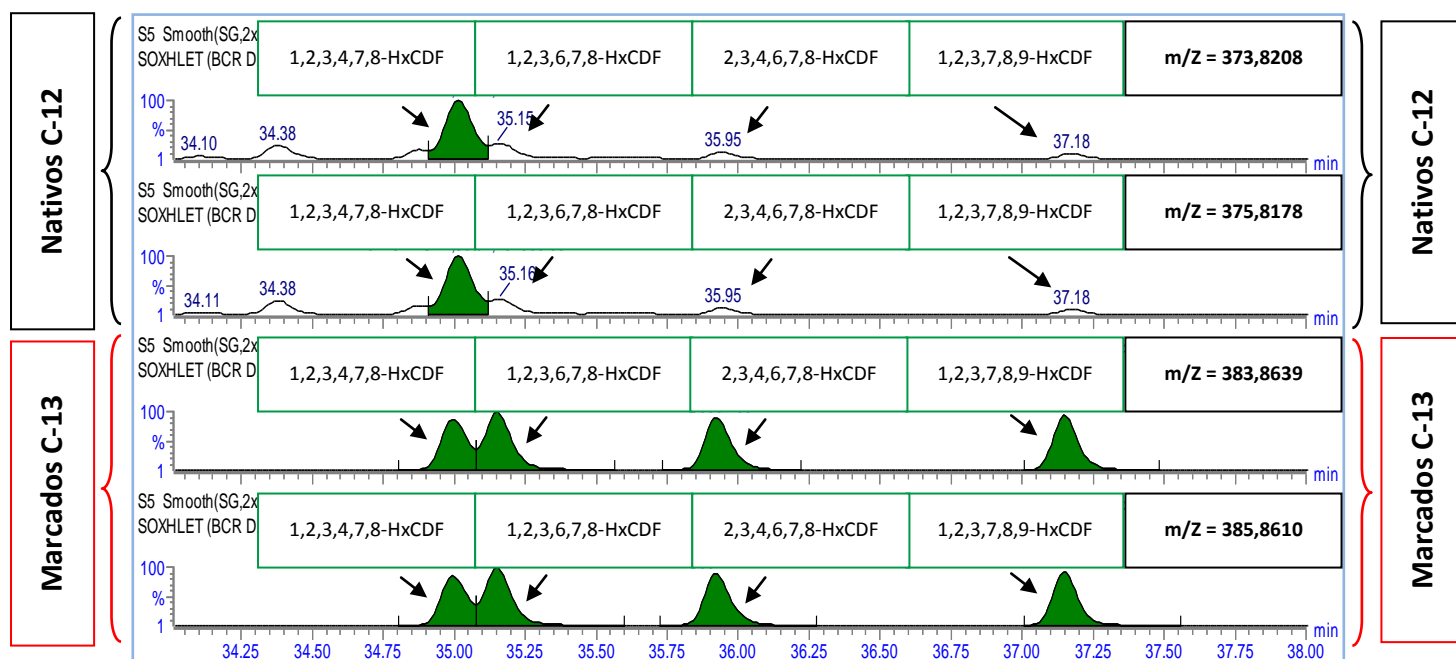


Figura 3.7. – Cromatograma da Janela de separação dos congêneres hexaclorados de dibenzofuranos (HxCDFs).

Para a obtenção deste cromatograma foi utilizado um Cromatógrafo Gasoso (*Agilent 6890 Series*) acoplado a um Espectrómetro de Massa de Alta Resolução (*Micromass AutoSpec-Ultima*). Para a separação dos congêneres foi utilizada uma coluna cromatográfica capilar VF-5MS da marca *Varian* (com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura de filme).

Na figura 3.7, é possível visualizar os picos e as áreas dos isómeros marcados e nativos, bem como a identificação dos respetivos congêneres. Assim, através da relação entre o sinal obtido para um determinado congénere na forma nativa com o sinal obtido para o mesmo isómero na forma isotópica marcada, é possível através da aplicação da equação apresentada na figura 3.6, obter o FRR de cada congénere.

Tendo em consideração, que as quantidades dos congêneres marcados que são adicionados durante as etapas da determinação analítica, são idênticas às existentes nos padrões de calibração, e tendo-se determinado previamente o FRR de cada congénere através das curvas de calibração, facilmente se determina para cada amostra a única incógnita que resta da equação da figura 3.6, isto é, a concentração dos congêneres nativos – $C_n(^{12}\text{C})$.

Relativamente às condições de operação do espectrómetro de massa de alta resolução, a identificação dos congêneres foi efetuada com base nas massas e razão entre as massas dos iões relativos aos fragmentos de cada PCDD/Fs e PCBs (nativos e marcados), bem como com base nos respetivos tempos de retenção. Para se obter uma maior seletividade, e em conformidade com os métodos EPA consultados, foi utilizado o modo seletivo de iões (SIM) e uma resolução igual ou superior a 10000 (em termos de 10% de definição de vale).

O método de ionização da fonte do espectrómetro de massa consistiu na ionização eletrónica em modo positivo (EI^+), utilizando um valor de energia de ionização de 37 eV e uma voltagem de aceleração de 8000 V. A temperatura da fonte foi otimizada a 250°C e a verificação do valor da resolução do espectrómetro (igual ou superior a 10000 em termos de 10% de definição de vale),

efetuiu-se mediante ao recurso do material de referência certificado – Perfluorqueroseno (PFK). Assim, previamente à análise cromatográfica, foram verificadas e afinadas as leituras de três fragmentos do PFK, escolhidos de modo a cobrir a gama das massas dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em escrutínio. Para critério de rejeição estabeleceu-se como limite, um desvio máximo de 5 ppm³³, para a diferença entre a razão m/Z dos fragmentos do PFK teóricos e lidos pelo equipamento. Caso esse limite fosse ultrapassado era necessário afinar o sistema, ou seja, como é costume dizer efetuar novo *tune*.

Os restantes critérios para confirmar e identificar os congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, que foram utilizados no âmbito desta Tese Doutoral, consistiram no seguinte:

1. Consideraram-se picos cromatográficos aqueles que apresentassem uma razão sinal/ruído superior a 3, sendo os restantes atribuídos a ruído ou flutuações da linha de base;
2. Para um pico cromatográfico ser considerado como pertencente a um congénere de PCDD/Fs ou PCBs com atividade de dioxina, o seu tempo de retenção tinha de estar dentro de um intervalo definido (até 5% do valor no padrão) e a diferença nos tempos de retenção entre os isómeros nativo e marcado não devia exceder os 2%;
3. Os picos cromatográficos correspondentes aos fragmentos de um isómero (nativo ou marcado) tinham de verificar a razão isotópica teórica correspondente, com um desvio máximo admissível de 15% do valor teórico esperado;
4. A identificação dos picos cromatográficos correspondentes aos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina nativos, efetuava-se por comparação com os tempos de retenção dos correspondentes congêneres marcados com carbono-13, adicionados durante as diferentes etapas da determinação analítica (amostragem, extração e injeção).

Na tabela 3.2 apresentam-se as diferentes massas e razões entre as massas dos iões para as janelas da análise cromatográfica. Salienta-se também, que a tabela representa duas análises em separado, isto é, uma primeira para os congêneres de PCDD/Fs e uma segunda para os PCBs com atividade de dioxina.

³³ A unidade de massa atómica designada dalton (Da) ou u (*unified atomic mass unit*) corresponde a 1/12 da massa de um átomo de carbono-12, quando este se encontra em repouso e no seu estado fundamental (1 Da = 1 u = 1,660 538 86 (28) x 10⁻²⁷ kg). A unidade de massa atómica não é uma unidade do Sistema Internacional de Unidades, no entanto, pode ser obtida e determinada experimentalmente em unidades do Sistema Internacional [6]. A unidade ppm (em espectrometria de massa) corresponde ao valor de uma determinada massa u dividida pelo fator 10⁶. Deste modo, 5 ppm relativamente a um fragmento com massa 292,9825 u, corresponde a 0,0015 u (isto é, 292,9825 x 5/10⁶).

Tabela 3.22. – Massas e razões entre as massas dos iões na análise de PCDD/Fs e PCBs. [1,2,5]

FUNÇÕES DA ANÁLISE PCDD/Fs	COMPOSTO	IÃO SELECIONADO		RAZÃO ISOTÓPICA (M ₁ /M ₂)
		M ₁ /Z	M ₂ /Z	
FUNÇÃO Nº 1 CONGÉNERES TETRACLORADOS (20:00 – 27:00 MIN.)	PFK	292,9825		-
	TCDF	303,9016	305,8987	M ⁺ /M ⁺² = 0,77
	TCDF (¹³ C)	315,9419	317,9389	M ⁺ /M ⁺² = 0,77
	TCDD	319,8965	321,8936	M ⁺ /M ⁺² = 0,77
	TCCD (³⁷ C)I	327,8847	305,8987	M ⁺ /M ⁺² = 0,77
	PFK	330,9792		-
	TCDD (13C)	331,9368	333,9339	M ⁺ /M ⁺² = 0,77
FUNÇÃO Nº 2 CONGÉNERES PENTACLORADOS (27:00 – 31:00 MIN.)	PeCDF	339,8597	341,8567	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,55
	PeCDF (¹³ C)	351,900	353,8970	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,55
	PFK	354,9792		-
	PeCDD	355,8546	357,8516	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,55
	PeCDD (¹³ C)	367,8949	369,8919	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,55
FUNÇÃO Nº 3 CONGÉNERES HEXACLORADOS (31:00 – 37:00 MIN.)	HxCDF	373,8208	375,8178	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,24
	HxCDF (¹³ C)	383,8639	385,8610	M ⁺ /M ⁺² = 0,51
	HxCDD	389,8157	391,8127	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,24
	PFK	392,9760		-
	HxCDD (¹³ C)	401,8559	403,8529	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,24
FUNÇÃO Nº 4 CONGÉNERES HEPTACLORADOS (37:00 – 42:00 MIN.)	HpCDF	407,7818	409,7789	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,05
	HpCDF (¹³ C)	417,8253	419,8220	M ⁺ /M ⁺² = 0,44
	HpCDD	423,7766	425,7737	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,05
	PFK	430,9729		-
	HpCDD (¹³ C)	435,8169	437,8140	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,05
FUNÇÃO Nº 5 CONGÉNERES OCTACLORADOS (42:00 – 50:00 MIN.)	OCDF	441,7428	443,7399	M ⁺² /M ⁺⁴ = 0,89
	PFK	442,9728		-
	OCDD	457,7377	459,7348	M ⁺² /M ⁺⁴ = 0,89
	OCDD (¹³ C)	469,7779	471,7750	M ⁺² /M ⁺⁴ = 0,89

FUNÇÕES DA ANÁLISE PCBs COM ATIVIDADE DE DIOXINA	COMPOSTO	IÕES SELECIONADO		RAZÃO ISOTÓPICA (M ₁ /M ₂)
		M ₁ /Z	M ₂ /Z	
FUNÇÃO Nº 1 CONGÉNERES TETRACLORADOS E PENTACLORADOS (15:00 – 24:00 MIN.)	PFK	318,9792		-
	TCB	291,9194	289,9224	M ⁺² /M ⁺² = 1,30
	TCB (¹³ C)	303,9597	301,9626	M ⁺⁴ /M ⁺² = 1,30
	PeCB	325,8804	327,8775	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,53
	PeCB (¹³ C)	337,9207	339,9178	M ⁺² /M ⁺⁴ = 1,53

FUNÇÃO Nº 2 CONGÉNERES PENTACLORADOS, HEXACLORADOS E HEPTACLORADOS (24:00 – 35:00 MIN.)	PFK	366,9792		-
	PeCB	325,8804	327,8775	$M^{+2}/M^{+4} = 1,53$
	PeCB (^{13}C)	337,9207	339,9178	$M^{+2}/M^{+4} = 1,53$
	HxCB	359,8415	361,8385	$M^{+2}/M^{+4} = 1,23$
	HxCB (^{13}C)	371,8817	373,8788	$M^{+2}/M^{+4} = 1,23$
	HPCB	393,8025	395,7995	$M^{+2}/M^{+4} = 1,02$
	HPCB (^{13}C)	405,8428	407,8398	$M^{+2}/M^{+4} = 1,02$



Figura 3.8. – Cromatógrafo Gasoso acoplado a um detetor de Espectrometria de Massa de Alta Resolução (GC/HRMS).

3.2. CAMPANHAS DE MONITORIZAÇÃO AMBIENTAL EM ECOSISTEMAS DE PORTUGAL

No âmbito da campanha de monitorização dos níveis dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina junto da costa portuguesa, foram analisados como indicadores biológicos os mexilhões da espécie *Mytilus galloprovincialis* ou *Mytilus edulis*. Todavia, para além da colheita de amostras de mexilhão, foram também realizadas campanhas de monitorização da zona costeira portuguesa, recorrendo a outro tipo de indicadores biológicos, nomeadamente os ovos de gaivota da espécie *Larus michahellis* (também conhecida, por gaivota-de-patas-amarelas).

3.2.1. MEXILHÃO

Os mexilhões, sendo uma classe de seres vivos que se alimentam do material existente em suspensão, atuam como bivalves filtradores, possuindo também, algumas características interessantes do ponto de vista ambiental. Dentro destas, a capacidade de bioacumulação para certos poluentes e a sua ampla distribuição, em termos geográficos, são características que fazem dos mexilhões um ótimo indicador biológico para avaliar a poluição do meio marinho. Por outro lado, os mexilhões refletem igualmente a variabilidade das condições ambientais. Estes aspetos são universalmente reconhecidos, uma vez, que os mexilhões são incluídos na maior parte dos programas de

acompanhamento e monitorização da poluição marinha (quer sejam de âmbito nacional ou internacional).

A título de interesse histórico, refere-se que o primeiro programa de monitorização para determinar as tendências espaciais e temporais da poluição de origem antropogénica em águas costeiras e estuarinas, utilizando mexilhões como indicadores biológicos, foi proposto por Goldberg em 1975 (*Mussel Watch Programme*) [7,8]. Desde então, vários programas têm sido efetuados em diversas regiões do globo, inclusivé na costa Portuguesa. Sobre este aspeto, é de salientar, que o primeiro exercício de monitorização do género em efetuado em Portugal foi realizado por Vale C. et al. (1985) [7,8]. Salienta-se também, que desde então, já se realizaram outros programas de monitorização de PCDD/Fs em Portugal, nomeadamente os efetuados por Augusto et al (2008) e Nunes et al (2011) [9,10]. A este respeito refere-se, que os citados autores conduziram a monitorização ambiental de PCDD/Fs, através da análise de amostras de líquenes e sedimentos/biota, na Península de Setúbal e no Estuário do Mondego, respetivamente.

Assim, verifica-se que os mexilhões acumulam contaminantes em níveis muito superiores aos que são encontrados na coluna de água, e por conseguinte, podem considerar-se representativos do estado ambiental de uma dada área. Deste modo, é possível inferir sobre a qualidade ambiental de uma determinada área, recorrendo análise de amostras de mexilhão aí colhidas.

De acordo com as diretrizes estabelecidas pelo Programa *Joint Assessment and Monitoring Programme* (JAMP), da Convenção OSPAR, os mexilhões devem ser utilizados como um organismo indicador biológico, para identificar áreas poluídas por congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina [11]. Utilizando este procedimento, é então possível, avaliar a poluição ambiental das zonas onde os mexilhões vivem, bem como a sua distribuição e tendências temporais. Deve contudo ser tido em conta, que os níveis de concentração dos poluentes encontrados nos mexilhões, por si só, não refletem o nível de contaminação da área onde estes seres vivem, uma vez, que existem outros fatores que influenciam a acumulação dos poluentes, tais como, a biodisponibilidade dos congéneres, a estação do ano em que é realizada a amostragem, a hidrodinâmica do ambiente, o tamanho, o sexo, as alterações na composição dos tecidos e o ciclo de reprodução.

Assim, o estudo contínuo das condições dos ecossistemas marinhos é uma das tarefas que todos os países membros da Convenção OSPAR devem conduzir, por forma, a avaliar, prevenir e eliminar a poluição marinha. Salienta-se também, que a monitorização efetuada no âmbito do programa JAMP, tem como finalidade de avaliar a eficácia das medidas adotadas para a reduzir a poluição marinha, e acompanhar, as suas tendências de evolução temporal.

O procedimento analítico utilizado para determinação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina nas amostras de mexilhão, foi o seguinte:

1. Depuração dos mexilhões – após a chegada das amostras ao laboratório, limpou-se com água do mar colhida no respetivo local de amostragem, a maior parte das impurezas presentes nas conchas, e posteriormente, os mexilhões foram mantidos em depuração durante um período de 24 horas, utilizando para o efeito a água do mar respetiva. Esta operação teve como objetivo eliminar totalmente o conteúdo intestinal de cada mexilhão (*pseudofaeces*);



Figura 3.9. – Depuração das amostras de mexilhão em água do mar durante 24 horas.

2. Medição do tamanho de cada indivíduo – terminado o período de depuração, os mexilhões foram medidos com uma craveira, e abertos, para se poder remover o bisso (estrutura de fixação). Posteriormente, os mexilhões foram posicionados em papel absorvente, com as conchas completamente abertas e colocadas numa posição vertical, por forma, a ser possível efetuar o descarte do líquido ainda presente na cavidade do manto;



Figura 3.10. – Medição e descarte do líquido presente na cavidade do manto dos mexilhões.

3. Determinação do teor de água – terminado o processo de descarte, verificou-se que apenas interior do manto se apresentava seco. Assim, as partes moles do mexilhão foram removidas e colocadas numa placa de Petri, previamente tarada e devidamente identificada com o n.º de amostra e a designação do respetivo ponto de colheita. Posteriormente, as caixas de petri com as amostras foram novamente pesadas, congeladas a -40°C e liofilizadas durante 72 horas. Após a liofilização, e depois de se verificar que as amostras estavam completamente secas, tornou-se a pesar cada uma das caixas de petri referentes às amostras. Por de diferença de massa foi determinado o teor inicial de água em cada amostra;



Figura 3.11. – Amostras de mexilhão (1 – Antes da liofilização e 2 – Durante a liofilização).

4. Moagem – após a liofilização e pesagem, as amostras foram moídas num triturador de mandíbulas, de modo a reduzir o seu estado a um fino pó. Posteriormente procedeu-se de acordo com a metodologia analítica descrita para a determinação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em amostras sólidas (biota).



Figura 3.12. – Trituração das amostras de mexilhão num triturador de mandíbulas.

3.2.2. OVOS DE GAIVOTA

Monitorizar a presença de POPs nas zonas onde as gaivotas habitam, recorrendo à análise química dos seus ovos, é uma estratégia que vem sendo utilizada há já algum tempo. A título de exemplo citam-se alguns estudos efetuados nesta área, designadamente Gilbertson (1987), Becker (1989 e 1991), Becker et al. (1991 e 1992), Walker (1992) e Bignert et al. (1995) [11].

Em Portugal, para esse efeito e no âmbito desta Tese Doutoral, foi selecionada a espécie *Larus michahellis* (também conhecida, por gaivota-de-patas-amarelas). Esta escolha teve em consideração a elevada abundância da espécie em Portugal, bem como a sua ampla distribuição geográfica junto da costa portuguesa. Deste modo, verifica-se que atualmente, esta é uma espécie em clara expansão, sendo que os países europeus onde existe maior número de casais reprodutores são a França, a Espanha, a Itália, Portugal e a Croácia. Em Portugal, a espécie pode ser encontrada durante todo o ano ao longo do litoral português, em particular nas praias, portos e na costa rochosa.

Sendo uma espécie de distribuição quase estritamente costeira, a sua abundância diminui rapidamente à medida que nos afastamos da costa. O seu tempo médio de vida varia entre os 15 a 20 anos, sendo que normalmente efetuam a nidificação durante o fim do mês de Abril e o princípio de Maio. A gaivota-de-patas-amarelas, normalmente alimenta-se do peixe obtido nos barcos de pesca, mas em caso de necessidade, recorre também às lixeiras como via alternativa de alimentação. Salienta-se também, que as crias alimentam-se sobretudo de pequenos peixes, larvas e insetos.



Figura 3.13. – Gaivota da espécie *Larus michahellis* ou gaivota-de-patas-amarelas.

Um dos aspetos importantes e que deve ser controlado, durante na análise de PCDDFs e PCBs com atividade de dioxina, em amostras de ovos de gaivota é o seu tempo de incubação. Assim, seguindo as orientações do Programa *Joint Assessment and Monitoring Programme* (JAMP), antes do início da análise, era necessário verificar que o tempo incubação dos ovos estava compreendido no período entre 1 e 5 dias. Deste modo, cada ovo era colocado num recipiente com água e, posteriormente verificava-se, se o ovo permanecia no fundo do recipiente com o eixo maior paralelo a este. Em caso afirmativo, considerava-se que o ovo estava fresco, ou seja, tinha pelo menos 1 a 2 dias de incubação. Por outro lado, se o ovo permanecesse no fundo do recipiente, numa disposição em que o seu eixo maior formasse um ângulo de 30 a 45° com o fundo do recipiente, considerava-se que o ovo tinha um período de incubação compreendido entre os 3 a 6 dias. Finalmente, caso o ovo flutuasse ou ficasse na posição vertical com a parte mais estreita orientada para baixo, considerava-se que o seu período de incubação era superior a 7 dias, e por conseguinte, esses ovos eram rejeitados da determinação analítica [11].



Figura 3.14. – Teste para a determinação do tempo de incubação dos ovos de gaivota.

Após a verificação do período de incubação dos ovos, estes foram identificados, medidos e pesados. Em conformidade com as orientações constantes do JAMP, da Convenção OSPAR, foi também determinada a espessura das cascas de cada ovo.



Figura 3.15. – Medição dos ovos de gaivota.

Posteriormente, os ovos foram abertos, transferiu-se o seu conteúdo (gema e clara) para um recipiente, e procedeu-se à homogeneização com um agitador mecânico do tipo “varinha mágica”. Deste modo, após a abertura, transferência e homogeneização dos ovos, obteve-se uma mistura que foi designada por “sopa”, sendo que esta correspondia à mescla dos 36 de ovos de gaivota que foram colhidos durante cada campanha de amostragem.

A determinação analítica dos congéneres de PCDD/Fs foi efetuada na “sopa”, pelo que esta foi pesada, congelada à temperatura de -40°C e submetida a uma liofilização durante 72 horas. No final da liofilização a “sopa” foi novamente pesada e, por diferença de massa, determinou-se o teor de água presente na amostra. Seguidamente procedeu-se à determinação analítica dos congéneres de PCDD/Fs, de acordo com a metodologia enunciada para amostras sólidas (biota).

Paralelamente foi estabelecida uma parceria com a *Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas* (CSIC, Barcelona - Espanha), por forma, a ser possível determinar o teor de Perfluorooctano Sulfonato (PFOS) nas amostras de ovos de gaivota. Esta estratégia foi delineada

porque Agência Portuguesa do Ambiente, em particular o Laboratório de Referência do Ambiente (LRA), não dispunha de capacidade instrumental para a determinação deste poluente, designadamente devido à inexistência de um sistema de Cromatografia Líquida acoplado a um detetor de Espectrometria de Massa que opere em modo sequencial ou *tandem*, ou seja, que permita efetuar uma segunda fragmentação dos iões por Espectrometria de Massa (LC/MS-MS). Assim, foi iniciado um projecto FCT de Cooperação Bilateral Portugal-Espanha denominado “Ovos de aves marinhas (gaivotas) como bio-indicadores de contaminação por POPs”.

3.2.3. EFLUENTES GASOSOS EM UNIDADES INDUSTRIAIS

Por forma a avaliar a exposição humana aos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, provenientes das emissões do setor de atividade da produção e transformação de metais, foi efetuada uma estimativa anual de emissão. Tal como abordado no Capítulo – Introdução deste documento, a ingestão oral de alimentos contaminados, assume um papel preponderante na assimilação destes poluentes, contribuindo com cerca de 90 a 95% de toda a carga assimilada. Verifica-se ainda, que a inalação de ar ou partículas de pó contaminadas constitui outra forma de assimilação, que contribui com os restantes 5 a 10% da carga. Assim, na avaliação da exposição humana, normalmente consideram-se três fatores cruciais, ou seja, o número de pessoas expostas, as concentrações específicas de exposição (por exemplo, o período de exposição e a dose) e a contribuição de fontes importantes de emissão.

As ações de amostragem foram efetuadas à saída da fonte fixa principal (chaminé), ou seja, a fonte que estava associada à etapa central do processo produtivo, no âmbito da produção/transformação de metais (genericamente, a chaminé de exaustão dos fornos). Assim, em cada unidade industrial foi colhida uma amostra de efluente gasoso, em conformidade com as disposições da Norma Portuguesa (NP) EN 1948-1 [3].

Nesta metodologia são utilizados dois adsorventes sólidos, designadamente um filtro de fibra de vidro (que serve para reter os compostos do efluente gasoso sob a forma de partículas) e uma espuma de poliuretano (PUF) ou uma resina porosa (XAD-2), cuja função consiste em reter os compostos que se encontram sob a forma de aerossóis. Durante a amostragem é também obtida uma fração líquida, sendo que esta corresponde à junção da água (condensada no trem de amostragem) com o solvente orgânico (utilizado para lavar as partes do trem que contataram com o efluente gasoso). A amostragem demora entre 6 a 8 horas, e normalmente, são amostrados entre 3 a 10 m³ de efluente gasoso, dependendo do caudal da fonte emissora e das condições operacionais. Previamente à ação de amostragem, os adsorventes sólidos foram fortificados com o padrão de amostragem EN1948SS, tal como referido no procedimento analítico anteriormente descrito para as amostras de efluentes gasosos.



Figura 3.16. – Amostragem de PCDD/Fs e PCBs numa fonte fixa (1 – Trem de amostragem e 2 – Adsorventes sólidos, respetivamente espuma PUF, filtro de fibra de vidro e frasco de recolha da água condensada/solventes de lavagem).

Após a ação de amostragem, recolheu-se o bocal e a sonda do trem, taparam-se os orifícios destes com tampas e folha de alumínio, e colocaram-se todas as partes devidamente acondicionadas, para o transporte para o laboratório.

O filtro de fibra de vidro foi isolado num porta-filtro, tendo-se tido o cuidado de tapar os seus orifícios, com folha de alumínio.

Os condensados foram armazenados num frasco de vidro escuro, fechado com uma rolha de teflon revestida a folha de alumínio, e posteriormente foram refrigerados, devidamente acondicionados e transportados para o laboratório.

O cartucho com o outro adsorvente sólido (espuma PUF ou resina XAD-2) foi vedado com uma tampa de teflon, revestida a folha de alumínio, refrigerado e devidamente acondicionado, para o transporte para o laboratório.

Finalmente, todas as partes do equipamento e das amostras foram devidamente etiquetadas/identificadas.

A chegada ao laboratório, procedeu-se à determinação analítica dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina nas amostras, em conformidade com as orientações definidas na Norma Portuguesa (NP) EN 1948-2 e EN 1948-3 [4,5].

Bibliografia

- [1] Method 1613, Revision B (1994). Tetra-through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS. U.S. Environmental Protection Agency Office of Water Engineering and Analysis Division;
- [2] Method 1668B (2008). Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, Biosolids, and Tissue by HRGC/HRMS. U.S. Environmental Protection Agency Office of Water Office of Science and Technology Engineering and Analysis Division;
- [3] Norma Portuguesa (NP) EN 1948-1 (2001). “Emissões de fontes fixas – Determinação da concentração mássica de PCDDs/PCDFs – Parte 1: Amostragem”, Instituto Português da Qualidade;
- [4] Norma Portuguesa (NP) EN 1948-2 (2002). “Emissões de fontes fixas – Determinação da concentração mássica de PCDDs/PCDFs – Parte 2: Extração e purificação”, Instituto Português da Qualidade;
- [5] Norma Portuguesa (NP) EN 1948-3 (2003). “Emissões de fontes fixas – Determinação da concentração mássica de PCDDs/PCDFs – Parte 3: Identificação e quantificação”, Instituto Português da Qualidade;
- [6] Bureau International des Poids et Mesures – “The International System of Units (SI)”, 8th edition (2006). http://www.bipm.org/en/si/si_brochure/chapter4/table7.html, acedido em Maio de 2011;
- [7] Miguel C., Machado L., Bebianno M.(1999). Concentrações de Cd, Cu e Zn em Mexilhões *Mytilus galloprovincialis* e Lapas *Patella aspera*, ao longo da Costa Algarvia (Sul de Portugal). *Ecotoxicology and Environmental Restoration*, 2, 1-6;
- [8] Gama A. (2010). Mecanismos de Degradação de Contaminantes Orgânicos Prioritários no Meio Aquático. Instituto Superior Técnico;
- [9] Augusto S., Pereira M., Amílcar S., Branquinho C. (2007). The contribution of environmental biomonitoring with lichens to assess human exposure to dioxins *International journal of hygiene and environmental health*, 210, 433–438;
- [10] Nunes M., Marchand P., Vernisseau A., Bizet B., Ramos F., Pardal M. (2011). A PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in sediment and biota from the Mondego estuary (Portugal). *Chemosphere*, 83, 1345–1352;
- [11] JAMP Guidelines for Monitoring Contaminants in Biota Contents (agreement 1999-2) – CEMP Monitoring Manual. OSPAR Comission, Monitoring Guidelines. http://www.ospar.org/content/content.asp?menu=00900301400135_000000_000000, acedido em Novembro de 2011;

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS

A implementação de um método de análise requer a avaliação periódica da sua eficácia, pelo que é necessário assegurar um controlo de qualidade efetivo e eficaz, que essencialmente, deve demonstrar a capacidade laboratorial para a análise das amostras. Devem portanto ser estabelecidos, critérios de avaliação de desempenho do método analítico que assegurem uma capacidade aceitável, em termos de precisão, exatidão e veracidade³⁴. Para esse efeito é necessário realizar ensaios de recuperação, ensaios de aptidão ou intercomparação, ensaios em duplicado, ensaios em branco, bem como a averiguar os limiares analíticos do método (limite de deteção e de quantificação). Adicionalmente deve também ser mantido o registo dos ensaios efetuados, por forma a ser possível inferir e avaliar a robustez, a repetibilidade e a reprodutibilidade do método.

Paralelamente, e no sentido de avaliar o estado ambiental de algumas áreas de interesse, bem como alguns setores de atividade específicos no âmbito dos PCDD/Fs, foram efetuadas diversas campanhas de monitorização, as quais implicaram a colheita de amostras de indicadores biológicos (mexilhão e ovos de gaivota) e efluentes gasosos em unidades industriais.

4.1.1. ESPETRÓMETRO DE MASSA DE ALTA RESOLUÇÃO – TEMPERATURA DA FONTE DE IONIZAÇÃO

Foram realizadas experiências acerca da variação do sinal dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, para diferentes valores de temperatura da fonte de ionização do espectrómetro de massa, nomeadamente 250°C, 280°C e 300°C. Nas figuras 4.1 e 4.2 apresentam-se os resultados obtidos.

³⁴ Define-se precisão como grau de concordância entre resultados de ensaios independentes obtidos em condições (pré-estabelecidas) específicas. Deste modo, o valor da precisão é geralmente expresso em termos de imprecisão e, normalmente, determinado sob a forma de um desvio padrão do resultado do ensaio. Por outro lado, a exatidão corresponde ao grau de concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceite. Finalmente define-se veracidade, como o grau de concordância entre o valor médio de uma longa série de resultados de ensaios e um valor de referência aceite. [1]

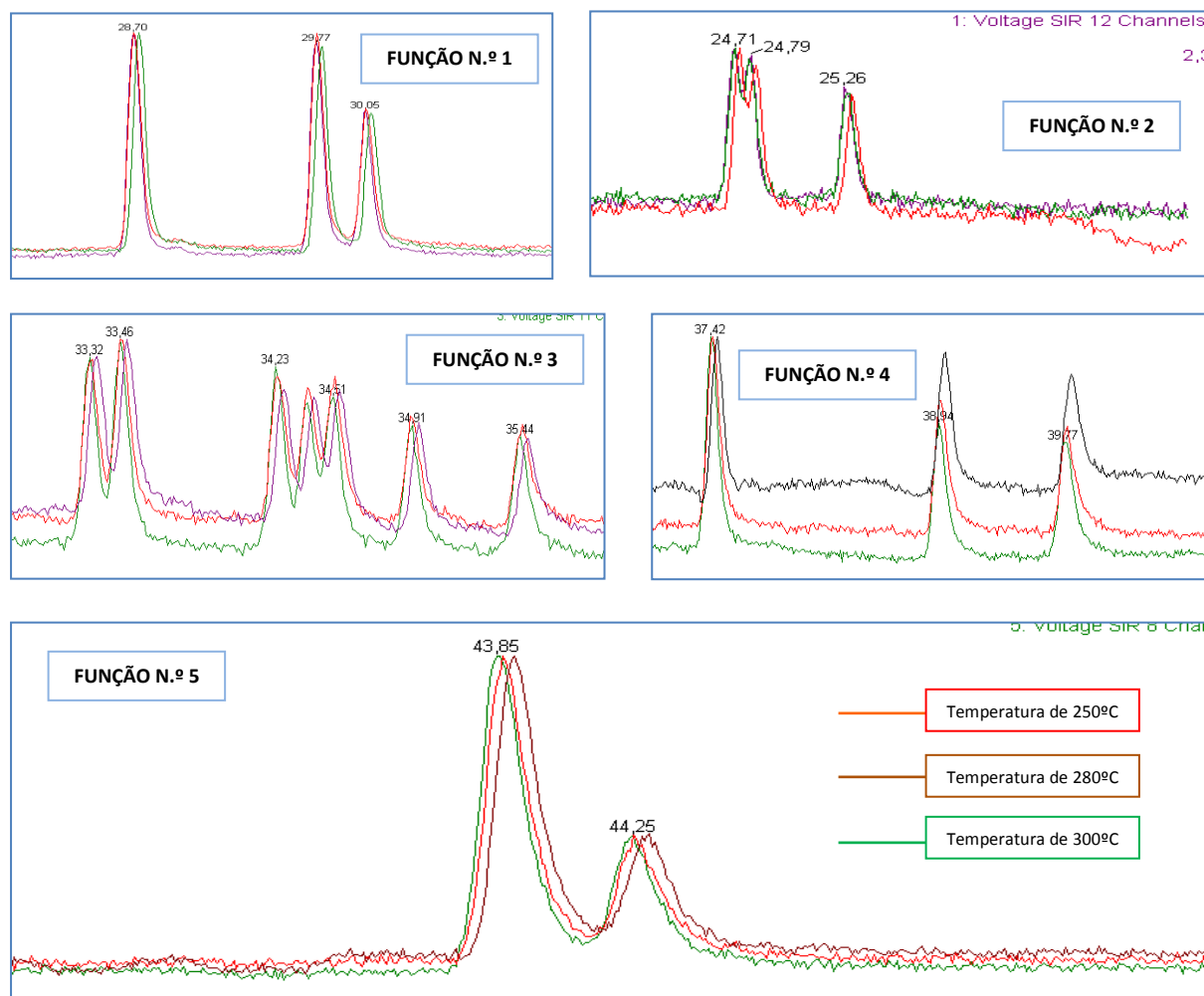


Figura 4.1. – Sinal obtido nas janelas cromatográficas de separação dos congêneres de PCDD/Fs em função da temperatura da fonte de ionização do espectrómetro de massa.

As Janelas cromatográficas de separação correspondem às apresentadas na tabela 3.2; Função N.º 1 – congêneres tetraclorados (dos 20:00 aos 27:00 minutos), função N.º 2 – congêneres pentaclorados (dos 27 aos 31:00 minutos), função N.º 3 – congêneres hexaclorados (dos 31:00 aos 37:00 minutos), função N.º 4 – congêneres heptaclorados (dos 37:00 aos 42:00 minutos) e função N.º 5 – congêneres octaclorados (dos 42:00 aos 50:00 minutos). Para a obtenção deste cromatograma foi utilizado um Cromatógrafo Gasoso (*Agilent 6890 Series*) acoplado a um Espectrómetro de Massa de Alta Resolução (*Micromass AutoSpec-Ultima*). Para a separação dos congêneres foi utilizada uma coluna cromatográfica capilar VF-5MS da marca *Varian* (com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme).

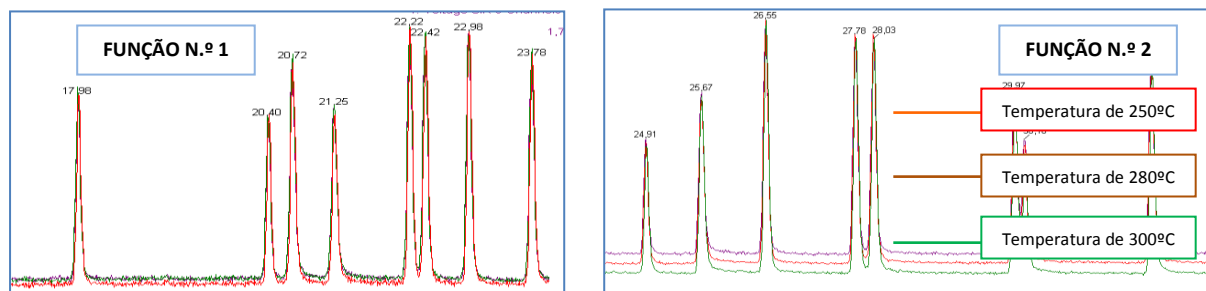


Figura 4.2. – Sinal obtido nas janelas cromatográficas de separação dos congêneres de PCBs com atividade de dioxina em função da temperatura da fonte de ionização do espectrómetro de massa.

Janelas cromatográficas de separação correspondem às apresentadas na tabela 3.2; Função Nº 1 – congêneres tetraclorados e pentaclorados (dos 15:00 aos 24:00 minutos) e a função Nº 2 – congêneres pentaclorados, hexaclorados e heptaclorados (dos 24 aos 35:00 minutos). Para a obtenção deste cromatograma foi utilizado um Cromatógrafo Gasoso (*Agilent 6890 Series*) acoplado a um Espectrómetro de Massa de Alta Resolução (*Micromass AutoSpec-Ultima*). Para a separação dos congêneres foi utilizada uma coluna cromatográfica capilar VF-5MS da marca *Varian* (com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura de filme).

Verifica-se portanto, pela análise das figuras 4.1 e 4.2, que o fator temperatura da fonte de ionização do espectrómetro de massa não é determinante na intensidade do sinal, durante a análise de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina.

4.1.2. CONTROLO DE QUALIDADE

4.1.2.1. PRECISÃO INTERMÉDIA E ENSAIOS EM BRANCO

No âmbito desta Tese Doutoral, para se aferir a reprodutibilidade ou precisão intermédia dos métodos implementados, optou-se por efetuar injeções repetidas de dois padrões diferentes e durante vários dias, no sistema de cromatografia. Neste sentido, foram selecionados o primeiro padrão da curva de calibração (respetivamente, o EPA1613CS1, o EN1948CS2 e o WP-CS2), e um outro padrão, ao nível de concentração intermédia da curva (designadamente, o EPA1613CS3, o EN1948CS4 e o WP-CS5).

Como critério de aceitação para a validação das condições de reprodutibilidade, foi fixado o limite máximo de $\pm 20\%$ para o desvio padrão relativo associado às injeções efetuadas. Na tabela 4.1 apresentam-se os resultados obtidos:

Tabela 4.1. – Resultados da reprodutibilidade dos métodos implementados.

A determinação da reprodutibilidade foi efetuada através da leitura de 10 injeções com dois padrões distintos no sistema de cromatografia GC/HRMS. Os padrões utilizados correspondem ao primeiro padrão da curva de calibração (EPA1613CS1, EN1948CS2 e WP-CS2) e a um padrão de concentração intermédia da referida curva (EPA1613CS3, EN1948CS4 e WP-CS5). As concentrações do padrão EPA1613CS1 correspondem a 0,5 ng/ml para os congéneres TCDD/F, 2,5 ng/ml para os PCDD/Fs até aos HpCDD/Fs e 5,0 ng/ml para os OCDD/Fs. As concentrações do padrão EPA1613CS3 correspondem a 10 ng/ml para os congéneres TCDD/F, 50 ng/ml para os PCDD/Fs até aos HpCDD/Fs e 100 ng/ml para os OCDD/Fs. As concentrações do padrão EN1948CS2 correspondem a 0,8 ng/ml para os congéneres TCDD/F, 1,6 ng/ml para os PCDD/Fs até aos HxCDD/Fs e 3,4 ng/ml para os HpCDD/Fs e OCDD/Fs. As concentrações do padrão EN1948CS4 correspondem a 16 ng/ml para os congéneres TCDD/F, 32 ng/ml para os PCDD/Fs até aos HxCDD/Fs e 64 ng/ml para os HpCDD/Fs e OCDD/Fs. As concentrações do padrão WP-CS2 correspondem a 0,5 ng/ml para todos os congéneres PCBs e, no padrão WP-CS5, correspondem a 40 ng/ml também para todos os congéneres PCBs.

NOME DO CONGÉNERE	DESVIO PADRÃO RELATIVO (%) 1º PADRÃO (n=10)		DESVIO PADRÃO RELATIVO (%) PADRÃO INTERMÉDIO (n=10)	
	AMOSTRAS SÓLIDAS (EPA1613CS1)	AMOSTRAS GASOSAS (EN1948CS2)	AMOSTRAS SÓLIDAS (EPA1613CS3)	AMOSTRAS GASOSAS (EN1948CS4)
2,3,7,8-TCDF	13	9,2	6,5	5,0
1,2,3,7,8-PeCDF	5,3	6,2	5,0	4,5
2,3,4,7,8-PeCDF	5,7	5,1	5,1	4,4
1,2,3,4,7,8-HxCDF	5,3	4,9	4,1	4,0
1,2,3,6,7,8-HxCDF	7,4	6,5	5,3	5,0
2,3,4,6,7,8-HxCDF	5,3	5,1	3,8	5,2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	5,8	5,7	4,7	3,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	5,6	3,0	5,6	2,8
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	8,7	3,7	5,0	3,4
OCDF	7,9	3,6	7,5	3,6
2,3,7,8-TCDD	11	11	8,2	4,7
1,2,3,7,8-PeCDD	4,2	6,0	4,1	4,6
1,2,3,4,7,8-HxCDD	8,2	6,2	5,7	5,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	3,9	4,9	5,7	3,2
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4,9	6,2	4,9	5,7
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	6,8	4,7	6,0	3,3
OCDD	6,8	4,5	5,6	3,7
NOME DO CONGÉNERE	WP-CS2 (AMOSTRAS SÓLIDAS E GASOSAS)		WP-CS5 (AMOSTRAS SÓLIDAS E GASOSAS)	
3,4,4',5-TCB (IUPAC #81)	10		2,6	
3,3',4,4'-TCB (IUPAC #77)	14		2,4	
2',3,4,4',5-PeCB (IUPAC #123)	10		3,1	
2,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #118)	16		4,4	
2,3,4,4',5-PeCB (IUPAC #114)	13		4,4	
2,3,3',4,4'-PeCB (IUPAC #105)	10		2,6	
3,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #126)	10		2,4	
2,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #167)	11		4,3	
2,3,3',4,4',5-HxCB (IUPAC #156)	10		1,7	
2,3,3',4,4',5'-HxCB (IUPAC #157)	19		4,7	
3,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #169)	13		5,0	
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (IUPAC #189)	18		3,2	

Salienta-se também, que a avaliação da precisão do sistema GC/HRMS, bem como o número de algarismos significativos apresentados no resultado final do ensaio, foi averiguada através do cálculo do desvio padrão associado a 10 injeções independentes de cada um dos diferentes níveis de calibração dos padrões (o valor reportado no resultado final apenas deve mencionar o primeiro algarismo significativo que está afectado de dúvida, ou seja, que é incerto). Deste modo, ficou-se também a conhecer a precisão do sistema de GC/HRMS ao longo da gama de calibração.

Relativamente aos ensaios em branco, verifica-se que genericamente, um ensaio de amostra branca consiste na aplicação do método analítico completo a uma toma de ensaio retirada de uma amostra isenta da substância que se pretende determinar. Para avaliar eventuais contaminações do material utilizado, bem como a presença de interferentes nos solventes e reagentes, é normal proceder-se à realização de ensaios em branco. Estes ensaios podem abranger o método inteiro, ou apenas algumas das suas partes. Assim, estabeleceu-se como critério, que deviam ser efetuados ensaios em branco do método com uma periodicidade de 20 em 20 amostras, e brancos de solvente, para cada série de 5 amostras.

4.1.2.2. LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO (LD E LQ)

O limite de detecção de um método (LD) corresponde ao início do intervalo em que é possível distinguir com uma dada confiança estatística (normalmente, 95% ou superior) o sinal do branco do sinal da amostra, e como tal, indicar se o analito em questão está ausente ou presente. O LD normalmente é determinado por intermédio da análise repetida de uma amostra, com ou sem adição de analito. Assim, caso o nosso método produza resultados positivos para amostras em branco, isto é, sem a adição de analito, o LD corresponde à soma do valor médio da concentração determinada com o produto do desvio padrão dos vários ensaios ($n \geq 7$).

Normalmente utiliza-se também um fator, por exemplo o valor de *t-Student*, para aferir o nível de confiança da distribuição dos resultados obtidos, tal como se apresenta na equação seguinte:

$$LD = \bar{X} + t - student \cdot Desvio\ Padrão$$

Figura 4.3. – Equação para o cálculo do LD de um método com valores positivos para as amostras em branco.

Nesta figura o termo \bar{X} representa a média dos ensaios efetuados e o parâmetro *t-student* corresponde ao valor dessa distribuição (considerando o respetivo número de graus de liberdade).

Por outro lado, quando o método em uso não produz valores positivos para as amostras de brancos, o LD é determinado através da análise de vários ensaios, nos quais, existe uma reduzida adição de analito. Neste caso, o LD corresponde apenas ao produto do desvio padrão dos ensaios por um fator que afere o nível de confiança dos resultados, tal como se apresenta na equação seguinte:

$$LD = 0 + t - student \cdot Desvio\ Padrão$$

Figura 4.4. – Equação para o cálculo do LD de um método sem valores positivos para as amostras em branco.

Nesta figura o termo *t-student* corresponde ao valor dessa distribuição (considerando o respetivo número de graus de liberdade).

Como conclusão salienta-se também, que dependendo o LD do método de vários factores que variam no tempo, tais como, as contaminações, o tipo de amostra, o equipamento, o operador e etc., este limite deve ser sempre confirmado experimentalmente, e reavaliado, quando houver alterações no equipamento, no pessoal, nos critérios de aceitação, ou quando se trabalha numa gama de concentrações significativamente baixa.

Relativamente ao Limite de Quantificação do método (LQ), este corresponde à menor concentração de analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e exatidão. No caso das metodologias desenvolvidas para a análise de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, estabeleceu-se que o LQ corresponderia ao valor da concentração do primeiro padrão da curva de calibração.

Na tabela 4.2 apresentam-se os valores de LD e LQ para os métodos analíticos implementados (designadamente, para a análise de amostras sólidas e gasosas).

Tabela 4.2. – Limites de deteção (LD) e quantificação (LQ) dos métodos implementados.

Nesta tabela o LQ de cada congénere corresponde ao primeiro padrão da sua curva de calibração, enquanto que para o cálculo do LD foram efetuadas 10 leituras do primeiro padrão no sistema GC/HRMS e selecionado um valor de *t-Student*, correspondente a um nível de confiança de 99,5% (9 graus de liberdade, n-1).

^{a)} Os valores do LQ e LD determinados para as amostras de sólidos têm por base a utilização de uma massa de 1 g de amostra para o ensaio.

A curva de calibração para os congéneres de PCDD/Fs em amostras de sólidos (padrões EPA1613) abrange a gama de calibração de 5 a 2000 ng/kg para os TCDD/F, 25 a 10000 ng/kg para os HxCDD/Fs até aos HpCDD/Fs e 50 a 20000 ng/kg para os OCDD/Fs (considerando 1 g de amostra extraída). A curva de calibração para os congéneres de PCDD/Fs em amostras de efluentes gasosos (padrões EN1948) abrange a gama de calibração de 0,02 a 8 ng para os TCDD/F, 0,04 a 16 ng para os HxCDD/Fs e 0,08 a 32 ng para os HpCDD/Fs e OCDD/Fs. A curva de calibração para os congéneres de PCBs com atividade de dioxina em amostras de sólidos abrange a gama de calibração de 5 a 8000 ng/kg para todos os congéneres de PCBs (considerando 1 g de amostra extraída). A curva de calibração para os congéneres de PCBs com atividade de dioxina em amostras de efluentes gasosos abrange a gama de calibração de 0,005 a 8 ng para todos os congéneres de PCBs.

NOME DO CONGÉNERE	LIMITE DE DETEÇÃO (LD)		LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (LQ)	
	AMOSTRAS SÓLIDAS (ng/kg) ^{a)}	AMOSTRAS GASOSAS (ng)	AMOSTRAS SÓLIDAS (ng/kg) ^{a)}	AMOSTRAS GASOSAS (ng)
2,3,7,8-TCDF	0,2	0,006	5	0,02
1,2,3,7,8-PeCDF	0,4	0,008	25	0,04
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	0,007	25	0,04
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,4	0,006	25	0,04
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,6	0,008	25	0,04
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,4	0,007	25	0,04
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,5	0,007	25	0,04
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,5	0,008	25	0,08
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,7	0,01	25	0,08
OCDF	1,3	0,008	50	0,08
2,3,7,8-TCDD	0,2	0,007	5	0,02
1,2,3,7,8-PeCDD	0,3	0,008	25	0,04
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,5	0,008	25	0,04
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,6	0,006	25	0,04
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,4	0,008	25	0,04
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,6	0,01	25	0,08
OCDD	1,1	0,01	50	0,08
3,4,4',5-TCB (IUPAC #81)	2	0,002	5	0,005
3,3',4,4'-TCB (IUPAC #77)	2	0,002	5	0,005
2',3,4,4',5-PeCB (IUPAC #123)	2	0,002	5	0,005
2,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #118)	3	0,003	5	0,005
2,3,4,4',5-PeCB (IUPAC #114)	2	0,002	5	0,005
2,3,3',4,4'-PeCB (IUPAC #105)	2	0,002	5	0,005
3,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #126)	2	0,002	5	0,005
2,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #167)	2	0,002	5	0,005
2,3,3',4,4',5-HxCB (IUPAC #156)	2	0,002	5	0,005
2,3,3',4,4',5'-HxCB (IUPAC #157)	3	0,003	5	0,005
3,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #169)	2	0,002	5	0,005
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (IUPAC #189)	3	0,003	5	0,005

4.1.2.3. ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO

A repetibilidade de um dado método consiste na concordância dos resultados de medições sucessivas de uma mesma grandeza quando efetuadas nas mesmas condições de medição, ou seja, com o mesmo material de ensaio, o mesmo método, o mesmo operador, o mesmo local, o mesmo instrumento de medição e num curto espaço de tempo. Por outro lado, verifica-se que a reprodutibilidade corresponde ao grau de concordância entre os resultados das medições de um determinado método de ensaio quando efetuadas em condições de medição variável, ou seja, utilizando o mesmo material de ensaio, e variando uma ou mais, das restantes condições. Não obstante à referida definição, atualmente é mais vulgar utilizar terminologia precisão intermédia, quando se pretende exprimir o grau de concordância entre os resultados de uma mensuranda em função da variação de um ou mais fatores. Assim, sempre que sejam efetuados ensaios analíticos utilizando o mesmo método e o mesmo laboratório, mas alterando algumas condições claramente definidas, tais como, os operadores, os equipamentos, os períodos temporais e etc., está-se a avaliar a variabilidade do ensaio dentro do laboratório.

Tal com enunciado, os resultados analíticos obtidos pela repetição do ensaio para um dado Material de Referência Certificado (MRC) estão afetados por variações. Estas dependem de diversos fatores, nomeadamente fatores de natureza humana (por exemplo, erros nas medições dos volumes, pesagens, a adição dos padrões e etc.) e fatores de natureza mecânica (oscilações do sinal dos equipamentos durante as medições e etc.). Neste sentido, quando se pretende efetuar ensaios em duplicados ou triplicado de um MRC é natural o estabelecimento de um critério de aceitação para o resultado. O valor deste critério deverá ter em atenção diversos fatores, tais como, o grau de complexidade da matriz do MRC, o teor dos compostos sob escrutínio presentes no MRC, o tipo de equipamento de análise utilizado e outros.

Normalmente aceita-se como critério de exatidão das medições o intervalo de $\pm 10\%$ do valor certificado no MRC. Contudo, tendo em consideração alguns dos fatores anteriormente referidos, esse intervalo pode ser alargado. Para os congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina marcados com carbono-13, que são adicionados durante as diferentes etapas da determinação analítica, estabeleceu-se como critério de aceitação, que as suas recuperações deviam situar-se entre os 40 e 130% da quantidade adicionada (tal como referido no método EPA1613). Relativamente aos congéneres nativos, os valores das recuperações obtidas nos ensaios com MRC, deviam estar compreendidos entre 80 e 120% do valor certificado.

Todavia, no campo da química orgânica, muitas vezes não é possível encontrar MRC para alguns compostos. Nesse caso, é vulgarmente aceite, que a veracidade das medições possa ser avaliada através da recuperação de quantidades conhecidas de um analito, quando este é adicionado a amostras com teor desconhecido. Salienta-se no entanto, que nesta situação, e de forma contrária ao caso de uma substância que já se encontre presente numa dada amostra, o analito adicionado não se encontra quimicamente ligado à matriz real, e por conseguinte, os resultados serão menos fiáveis que os resultantes da utilização do MRC.

Relativamente aos ensaios em replicado, ou seja, ensaios efetuados sobre duas (ou mais) tomas da mesma amostra, as quais são submetidas em separado, a todo o processo analítico em condições de

repetibilidade ou reprodutibilidade³⁵ laboratorial, foi definido como critério de aceitação dos resultados, que os desvios máximos das concentrações não podiam exceder o valor de 20% em módulo. Adicionalmente estabeleceu-se também, que deviam ser realizados ensaios de replicado, por cada série de 20 amostras analisadas.

4.1.2.3.1. AMOSTRAS SÓLIDAS – SOXHLET E ASE/PLE

Através das técnicas de extração por Soxhlet, ASE/PLE foram efetuados ensaios de recuperação em amostras de sedimentos, cinzas e solos. Os resultados obtidos nesses ensaios são apresentados nas tabelas 4.3 e 4.4.

Assim, numa primeira abordagem, por forma a avaliar a influência da adição de cobre metálico em pó durante a etapa de extração, bem como o efeito de remoção de interferentes por ação de ataques ácidos, foram efetuados ensaios analíticos com e sem estas operações unitárias. Relativamente a estes aspetos, refere-se que o cobre metálico em pó tem como função remover as interferências provocadas pela presença de enxofre nas amostras, enquanto que o ataque ácido é utilizado para destruir quimicamente o conteúdo lipídico. Deste modo, os ataques ácidos constituem uma operação unitária, que normalmente usada em amostras com elevado teor de gorduras (biota, óleos e etc).

³⁵ Define-se repetibilidade como a precisão em condições de repetibilidade, isto é, a obtenção de resultados de ensaios independentes com o mesmo método, com material de ensaio idêntico, no mesmo laboratório, pelo mesmo operador e utilizando o mesmo equipamento. Define-se reprodutibilidade como a precisão em condições de reprodutibilidade, isto é, a obtenção de resultados de ensaios com o mesmo método, com material de ensaio idêntico, em laboratórios diferentes, com operadores diferentes e utilizando equipamento diferente. [1]

Tabela 4.3. – Resultados dos ensaios de extração por Soxhlet efetuados com o sedimento certificado DX-1.

Nesta tabela COT corresponde ao teor de Carbono Orgânico Total do MRC sedimento DX-1. O valor médio dos ensaios corresponde à média das recuperações obtidas nos três ensaios de recuperação efetuados. A recuperação nativos e a recuperação marcados correspondem à média das recuperações obtidas nos três ensaios para os congêneres nativos e marcados, respetivamente. O termo DPR corresponde à divisão do desvio padrão pela média da recuperação, para os congêneres nativos, nos três ensaios de recuperação efetuados. A extração do sedimento DX-1 (*Wellington Laboratories – Ontário Canadá*, com 3,5% de Carbono Orgânico Total – COT) foi efetuada através das técnicas de Soxhlet, com/sem a adição de cobre metálico em pó na etapa de extração e com/sem a utilização de ataque ácido na etapa de limpeza de extrato. Foi utilizado 1 g de amostra em cada ensaio e o certificado do MRC não certifica o valor dos congêneres de PCBs com atividade de dioxina.

CONGÉNERES DE PCDD/FS E PCBs	MRC DX-1 (sedimento) (COT = 3,5%) [ng/kg]	SOXHLET (48 HORAS COM TOLUENO, n=3) COM COBRE EM PÓ E 3 ATAQUES ÁCIDOS (H ₂ SO ₄)				SOXHLET (48 HORAS COM TOLUENO, n=3) SEM COBRE EM PÓ E SEM ATAQUES ÁCIDOS			
		VALOR MÉDIO DOS ENSAIOS [ng/kg]	RECUPERAÇÃO NATIVOS (%)	DPR (%)	RECUPERAÇÃO MARCADOS (%)	VALOR MÉDIO DOS ENSAIOS [ng/kg]	RECUPERAÇÃO. NATIVOS (%)	DPR (%)	RECUPERAÇÃO MARCADOS (%)
2,3,7,8-TCDF	89 ± 44	51	58	24	85	32	36	29	103
1,2,3,7,8-PeCDF	39 ± 14	45	114	18	79	40	101	4,9	88
2,3,4,7,8-PeCDF	62 ± 32	67	109	9,3	82	81	130	9,0	85
1,2,3,4,7,8-HxCDF	714 ± 276	669	94	6,2	82	639	90	1,9	96
1,2,3,6,7,8-HxCDF	116 ± 37	128	110	2,1	72	111	96	7,9	88
2,3,4,6,7,8-HxCDF	57 ± 36	63	110	4,6	76	56	98	6,6	86
1,2,3,7,8,9-HxCDF	28 ± 42	48	172	2,1	86	44	156	1,1	91
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2397 ± 796	2468	103	2,6	71	2467	103	1,3	67
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	137 ± 62	157	115	2,1	84	152	111	1,6	69
OCDF	7122 ± 2406	7669	108	20	-	6362	89	2,4	-
2,3,7,8-TCDD	263 ± 53	260	99	0,6	81	216	82	0,6	104
1,2,3,7,8-PeCDD	22 ± 8	28	129	13	79	28	129	2,5	87
1,2,3,4,7,8-HxCDD	23 ± 7	22	96	5,2	87	25	107	20	85
1,2,3,6,7,8-HxCDD	77 ± 27	88	114	12	70	75	98	2,4	92
1,2,3,7,8,9-HxCDD	53 ± 24	41	77	27	-	42	79	4,4	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	634 ± 182	640	101	11	74	654	103	1,0	70
OCDD	3932 ± 933	4187	106	8,9	69	3904	99	2,4	52
3,4,4',5-TCB (IUPAC #81)	-	475	-	7,2	51	421	-	16	103
3,3',4,4'-TCB (IUPAC #77)	-	6244	-	2,1	49	6519	-	22	110
2',3,4,4',5-PeCB (IUPAC #123)	-	1377	-	7,1	64	991	-	22	90
2,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #118)	-	44670	-	3,4	67	41977	-	13	90
2,3,4,4',5-PeCB (IUPAC #114)	-	1939	-	10	60	1902	-	15	93
2,3,3',4,4'-PeCB (IUPAC #105)	-	19230	-	6,0	47	23557	-	5,5	96
3,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #126)	-	328	-	29	49	206	-	16	116
2,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #167)	-	1549	-	4,3	68	1174	-	24	97
2,3,3',4,4',5-HxCB (IUPAC #156)	-	3934	-	5,6	56	3822	-	12	86
2,3,3',4,4',5'-HxCB (IUPAC #157)	-	761	-	12	51	727	-	3,6	91
3,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #169)	-	37	-	26	46	16	-	47	95
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (IUPAC #189)	-	410	-	9,0	66	337	-	8,7	85

A análise dos resultados expostos na tabela 4.3 mostra que o efeito da utilização de cobre em pó durante a etapa de extração, bem como o uso de ataques ácidos durante a etapa de limpeza do extrato, são fatores negligenciáveis em termo de afetação das recuperações dos analitos, dado que os valores de recuperação são semelhantes em ambos os casos. Esta situação era espectável, sobretudo no que respeita ao ataque ácido, uma vez, que o teor de lípidos nas amostras é quase inexistente (o MRC utilizado foi um sedimento).

Tal como no caso da extração por soxhlet, os resultados da tabela 4.4 (apresentados na página seguinte), referentes à extração por ASE/PLE, permitem verificar que não existem diferenças significativas em termos de recuperação de analito nos ensaios efetuados. Deste modo, é pertinente concluir que também nesta técnica de extração, os fatores cobre em pó e ataques ácidos, não parecem influir significativamente nos resultados dos ensaios de recuperação.

Foram também realizados ensaios de recuperação com outro tipo de MRC, designadamente o CRM 529 (*Community Bureau of Reference – European Commission*). Este MRC corresponde a um solo arenoso, e os resultados obtidos nos ensaios, apresentam-se na tabela 4.5.

Tabela 4.4. – Resultados dos ensaios de extração ASE/PLE efetuados com o sedimento certificado DX-1.

Nesta tabela COT corresponde ao teor de Carbono Orgânico Total do MRC sedimento DX-1. O valor médio dos ensaios corresponde à média das recuperações obtidas nos três ensaios de recuperação efetuados. A recuperação nativos e a recuperação marcados correspondem à média das recuperações obtidas nos três ensaios para os congêneres nativos e marcados, respetivamente. O termo DPR corresponde à divisão do desvio padrão pela média da recuperação, para os congêneres nativos, nos três ensaios de recuperação efetuados. A extração do sedimento DX-1 (*Wellington Laboratories – Ontário Canadá*, com 3,5% de Carbono Orgânico Total – COT) foi efetuada através da técnica de ASE/PLE, com/sem a adição de cobre metálico em pó na etapa de extração e com/sem a utilização de ataque ácido na etapa de limpeza de extrato. Foi utilizado 1 g de amostra em cada ensaio e o MRC não certifica o valor dos congêneres de PCBs com atividade de dioxina.

CONGÉNERES DE PCDD/Fs E PCBs	MRC DX-1 (sedimento) (COT = 3,5%) [ng/kg]	ASE/PLE COM n-HEXANO (30 MIN., 3 CICLOS, 12,4 MPA, 150°C, n=3) COM COBRE EM PÓ E 3 ATAQUES ÁCIDOS (H ₂ SO ₄)				ASE/PLE COM n-HEXANO (30 MIN., 3 CICLOS, 12,4 MPA, 150°C, n=3) SEM COBRE EM PÓ E SEM ATAQUES ÁCIDOS			
		VALOR MÉDIO DOS ENSAIOS [ng/kg]	RECUPERAÇÃO NATIVOS (%)	DPR (%)	RECUPERAÇÃO MARCADOS (%)	VALOR MÉDIO DOS ENSAIOS [ng/kg]	RECUPERAÇÃO NATIVOS (%)	DPR (%)	RECUPERAÇÃO MARCADOS (%)
2,3,7,8-TCDF	89 ± 44	69	77	16	66	44	49	2,3	94
1,2,3,7,8-PeCDF	39 ± 14	54	138	12	73	43	111	4,8	73
2,3,4,7,8-PeCDF	62 ± 32	95	152	42	70	83	134	5,7	73
1,2,3,4,7,8-HxCDF	714 ± 276	798	112	1,7	66	730	102	2,1	79
1,2,3,6,7,8-HxCDF	116 ± 37	149	128	0,8	64	133	114	4,4	77
2,3,4,6,7,8-HxCDF	57 ± 36	84	148	8,5	61	65	114	3,5	77
1,2,3,7,8,9-HxCDF	28 ± 42	65	230	8,5	60	52	186	2,2	83
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2397 ± 796	3328	139	4,1	44	2764	115	2,3	49
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	137 ± 62	232	169	8,2	41	163	119	3,5	41
OCDF	7122 ± 2406	7724	108	0,5	-	3401	48	33	-
2,3,7,8-TCDD	263 ± 53	248	94	1,9	74	272	103	4,2	91
1,2,3,7,8-PeCDD	22 ± 8	47	215	10	71	64	291	21	74
1,2,3,4,7,8-HxCDD	23 ± 7	30	131	13	68	23	101	24	82
1,2,3,6,7,8-HxCDD	77 ± 27	229	297	2,0	63	332	431	7,5	76
1,2,3,7,8,9-HxCDD	53 ± 24	90	170	14	-	143	269	15	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	634 ± 182	1956	308	0,2	57	2041	322	3,0	63
OCDD	3932 ± 933	9984	254	2,7	41	8349	212	1,2	45
3,4,4',5'-TCB (IUPAC #81)	-	600	-	13	45	-	-	-	-
3,3',4,4'-TCB (IUPAC #77)	-	6819	-	5,8	54	-	-	-	-
2',3,4,4',5'-PeCB (IUPAC #123)	-	1316	-	2,8	72	-	-	-	-
2,3',4,4',5'-PeCB (IUPAC #118)	-	46868	-	2,1	71	-	-	-	-
2,3,4,4',5'-PeCB (IUPAC #114)	-	2364	-	16	65	-	-	-	-
2,3,3',4,4'-PeCB (IUPAC #105)	-	20408	-	5,7	66	-	-	-	-
3,3',4,4',5'-PeCB (IUPAC #126)	-	283	-	10	58	-	-	-	-
2,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #167)	-	1800	-	2,4	72	1361	-	27	87
2,3,3',4,4',5'-HxCB (IUPAC #156)	-	4466	-	4,6	67	4208	-	12	88
2,3,3',4,4',5'-HxCB (IUPAC #157)	-	977	-	10	65	906	-	28	86
3,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #169)	-	27	-	41	55	34	-	12	41
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (IUPAC #189)	-	487	-	5,1	62	471	-	5,3	85

Tabela 4.5. – Resultados dos ensaios de extração por Soxhlet e ASE/PLE efetuados com o solo certificado CRM 529.

Nesta tabela COT corresponde ao teor de Carbono Orgânico Total do MRC sedimento DX-1. O valor médio dos ensaios corresponde à média das recuperações obtidas nos três ensaios de recuperação efetuados. A recuperação nativos e a recuperação marcados correspondem à média das recuperações obtidas nos três ensaios para os congêneres nativos e marcados, respetivamente. O termo DPR corresponde à divisão do desvio padrão pela média da recuperação, para os congêneres nativos, nos três ensaios de recuperação efetuados. A extração do solo CRM 529 (*Community Bureau of Reference – European Commission*, com 0,8% de Carbono Orgânico Total – COT) foi efetuada através das técnicas de Soxhlet e ASE/PLE, com a adição de cobre metálico em pó na etapa extração e com a utilização de ataque ácido na etapa de limpeza de extrato. Foi utilizado 0,4 g de amostra em cada ensaio e o MRC não certifica o valor dos congêneres de PCBs com atividade de dioxina.

CONGÉNERES DE PCDD/Fs E PCBs	MRC CRM 529 (SOLO ARENOSO) (COT = 0,8%) [ng/kg]	SOXHLET (48 HORAS COM TOLUENO, n=3) COM COBRE EM PÓ E 3 ATAQUES ÁCIDOS (H ₂ SO ₄)				ASE/PLE COM n-HEXANO (30 MIN., 3 CICLOS, 12,4 MPA, 150°C, n=3) COM COBRE EM PÓ E 3 ATAQUES ÁCIDOS (H ₂ SO ₄)			
		VALOR MÉDIO DOS ENSAIOS [ng/kg]	RECUPERAÇÃO NATIVOS (%)	DPR (%)	RECUPERAÇÃO MARCADOS (%)	VALOR MÉDIO DOS ENSAIOS [ng/kg]	RECUPERAÇÃO NATIVOS (%)	DPR (%)	RECUPERAÇÃO MARCADOS (%)
2,3,7,8-TCDF	78 ± 13	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8-PeCDF	140 ± 30	247	176	40	70	203	145	20	68
2,3,4,7,8-PeCDF	360 ± 70	555	154	5,1	82	460	189	1,0	69
1,2,3,4,7,8-HxCDF	3400 ± 500	4352	128	9,6	72	6218	198	18	71
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1090 ± 150	1184	109	11	74	1444	150	2,7	62
2,3,4,6,7,8-HxCDF	370 ± 40	518	140	8,7	73	658	206	11	69
1,2,3,7,8,9-HxCDF	22 ± 10	-	-	12	-	-	-	12	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	13652	-	3,5	-	15171	-	14	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	1984	-	2,9	-	2248	-	12	-
OCDF	-	60674	-	10	-	63556	-	16	-
2,3,7,8-TCDD	4500 ± 600	3955	88	2,4	75	5507	122	1,8	69
1,2,3,7,8-PeCDD	440 ± 50	666	151	12	80	3469	635	109	67
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1200 ± 300	1171	98	6,5	68	2058	163	54	71
1,2,3,6,7,8-HxCDD	5400 ± 900	5041	93	7,2	68	7623	141	30	64
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3000 ± 400	2045	68	2,0	-	2964	99	46	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	44920	-	8,4	-	59222	-	17	-
OCDD	-	245067	-	8,0	-	270657	-	10	-
3,4,4',5-TCB (IUPAC #81)	-	782	-	3,1	39	2971	-	5,6	52
3,3',4,4'-TCB (IUPAC #77)	-	21846	-	9,3	45	89640	-	26	65
2',3,4,4',5-PeCB (IUPAC #123)	-	3560	-	1,5	46	3301	-	8,0	97
2,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #118)	-	29970	-	5,0	47	34366	-	8,5	96
2,3,4,4',5-PeCB (IUPAC #114)	-	3728	-	11	44	4517	-	13	93
2,3,3',4,4'-PeCB (IUPAC #105)	-	11727	-	0,8	42	14011	-	5,7	90
3,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #126)	-	4089	-	1,4	54	6902	-	3,6	78
2,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #167)	-	25363	-	15	45	14374	-	4,6	82
2,3,3',4,4',5-HxCB (IUPAC #156)	-	19047	-	2,6	45	19763	-	4,8	79
2,3,3',4,4',5'-HxCB (IUPAC #157)	-	4899	-	5,8	45	3770	-	1,4	77
3,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #169)	-	554	-	1,1	58	569	-	10	67
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (IUPAC #189)	-	6124	-	4,0	44	6427	-	1,6	87

A análise dos resultados da tabela 4.5 mostra que ambas as técnicas extrativas (soxhlet e ASE/PLE) obtêm recuperações semelhantes.

Finalmente, na tabela 4.6 apresentam-se os resultados obtidos nas extrações efetuadas para duas amostras reais, recorrendo às técnicas de Soxhlet e ASE/PLE. Realtivamente à sua proveniência salienta-se que as amostras consistem num sedimento colhido na barragem de Castelo de Bode e num solo florestal. Verifica-se também, que estas amostras possuem distintos teores de carbono orgânico total (COT), ou seja, o sedimento possui 2,1% enquanto que o solo florestal possui 13,8%. Assim, a conclusão destes ensaios permitiu avaliar em particular, a influência do fator COT nas metodologias analíticas implementadas.

Tabela 4.6. – Resultados dos ensaios de extração efetuados em duas amostras com diferente teor de Carbono Orgânico Total.

Foram extraídas pelas técnicas de Soxhlet e ASE/PLE um sedimento colhido na barragem de Castelo de Bode (2,1% de COT) e um solo florestal (13,8% de COT).

^{a)} Para estes parâmetros os valores das concentrações determinadas pelo ensaio foram inferiores ao limite de quantificação do método. Assim, nestes casos utilizaram-se os designados Limites Superiores de Concentração, ou seja, sempre que o valor de concentração obtido para um congénere é inferior ao limite de quantificação do método, considera-se que a sua concentração na amostra corresponde ao limite de quantificação.

^{b)} Valores dos Fatores de equivalência de toxicidade da Organização Mundial de Saúde (OMS-TEF), revisão do ano de 2005. [8]

CONGÉNERES DE PCDD/Fs E PCBs	OMS-TEF ^{b)} (REVISÃO DE 2005)	SEDIMENTO [COT = 2,1%]		SOLO FLORESTAL [COT = 13,8 %]	
		SOXHLET (48 HORAS COM TOLUENO) [ng WHO-TEQ/kg]	PLE/ASE COM n-HEXANO (30 MIN., 3 CICLOS, 12,4 MPA, 150°C) [ng WHO-TEQ/kg]	SOXHLET (48 HORAS COM TOLUENO) [ng WHO-TEQ/kg]	PLE/ASE COM n-HEXANO (30 MIN., 3 CICLOS, 12,4 MPA, 150°C) [ng WHO-TEQ/kg]
2,3,7,8-TCDF	0,1	0,02 ^{a)}	0,02 ^{a)}	6,4	6,1
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	0,02 ^{a)}	0,02 ^{a)}	1,8	2,1
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	0,2 ^{a)}	0,8 ^{a)}	38	41
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	0,38	0,34	11	14
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	0,08 ^{a)}	0,24 ^{a)}	9,7	15
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	0,09 ^{a)}	0,24 ^{a)}	14	21
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	0,13 ^{a)}	0,13 ^{a)}	3,8	4,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	0,12	0,20	4,9	6,2
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01	0,012 ^{a)}	0,012 ^{a)}	0,54	0,36
OCDF	0,0003	0,013	0,019	0,15	0,056
2,3,7,8-TCDD	1,0	0,5 ^{a)}	0,5 ^{a)}	6,8	10
1,2,3,7,8-PeCDD	1,0	1,2 ^{a)}	2,5 ^{a)}	43	35
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	0,06 ^{a)}	0,06 ^{a)}	2,2	2,6
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	0,11 ^{a)}	0,11 ^{a)}	3,7	4,9
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	0,13 ^{a)}	0,13 ^{a)}	2,8	2,7
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	1,1	1,4 ^{a)}	2,2	3,3
OCDD	0,0003	0,33	0,47	0,22	0,34
TOTAL Σ CONGÉNERES PCDD/Fs		4,5	7,1	150	168
3,4,4',5-TCB (IUPAC #81)	0,0003	0,0012	0,00057	0,031	0,026
3,3',4,4'-TCB (IUPAC #77)	0,0001	0,0037	0,0019	0,18	0,18
2',3,4,4',5-PeCB (IUPAC #123)	0,00003	0,000006 ^{a)}	0,00001 ^{a)}	0,007	0,027
2,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #118)	0,00003	0,0068	0,0039	0,17	0,18
2,3,4,4',5-PeCB (IUPAC #114)	0,00003	0,00001 ^{a)}	0,00002 ^{a)}	0,0083	0,011
2,3,3',4,4'-PeCB (IUPAC #105)	0,00003	0,0026	0,0011	0,058	0,080
3,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #126)	0,1	0,34	0,29	83	76
2,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #167)	0,00003	0,00096	0,00036	0,14	0,12
2,3,3',4,4',5-HxCB (IUPAC #156)	0,00003	0,0020	0,00075	0,071	0,09
2,3,3',4,4',5'-HxCB (IUPAC #157)	0,00003	0,000006 ^{a)}	0,0002	0,018	0,017
3,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #169)	0,03	0,003 ^{a)}	0,003 ^{a)}	3,5	4,2
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (IUPAC #189)	0,00003	0,000003 ^{a)}	0,000003 ^{a)}	0,020	0,022
TOTAL Σ CONGÉNERES PCBs COM ATIVIDADE DE DIOXINA		0,36	0,30	87	81

4.1.2.3.2. AMOSTRAS SÓLIDAS – VÓRTEX, BANHO E SONDA DE ULTRA-SONS

Paralelamente aos ensaios efetuados com as técnicas de Soxhlet e ASE/PLE, foram também avaliadas as técnicas de extração por Vórtex, banho e sonda de ultra-sons. Na tabela 4.7 (da página seguinte), apresentam-se os resultados obtidos na extração de uma amostra de sedimento certificado, mediante a utilização das técnicas extrativas de agitação por Vórtex, banho e sonda de ultra-sons.

A análise dos resultados da tabela 4.7 mostra que o para os congéneres de PCDD/Fs as técnicas extractivas são bastante eficientes, obtendo-se recuperações de congéneres superiores a 70%, no entanto, para os congéneres de PCBs com actividade de dioxina os valores obtidos são significativamente baixos (na maior parte dos casos, são inferiores a 70%).

Tabela 4.7. – Resultados dos ensaios de extração, através das técnicas de agitação por Vórtex, banho de ultra-sons e sonda de ultra-sons, efetuados com o sedimento certificado WMS-01.

^{a)} A extração do sedimento certificado WMS-01 (*Wellington Laboratories – Ontário Canadá*) pela técnica de agitação vórtex foi efetuada com 5 ml de hexano, à temperatura ambiente de 26°C, utilizando um equipamento da marca *Genie*, no qual, foi selecionado o nível de agitação de valor intermédio (nível 5, numa escala de intensidade de 1 a 10);

^{b)} A extração do sedimento certificado WMS-01 (*Wellington Laboratories – Ontário Canadá*) pela técnica de banho de ultra-sons foi efetuada com 5 ml de hexano, com o banho termostatzado à temperatura de 30°C, utilizando um equipamento da marca *Ultrasonic 60 Larre* (potência de ultra-sons de 80-195 W, frequência de ultra-sons de 28-34 kHz e potência de aquecimento de 200 W);

^{c)} A extração do sedimento certificado WMS-01 (*Wellington Laboratories – Ontário Canadá*) pela técnica de sonda de ultra-sons foi efetuada com 5 ml de hexano, à temperatura ambiente de 24°C, utilizando um equipamento da marca *Hielscher UP100H* (potência de ultra-sons 100 W e frequência de ultra-sons de 30 kHz), no qual, foram selecionados o valor de 1 ciclo e uma percentagem de amplitude de 50%;

^{d)} Limite de quantificação do método (LQ).

CONGÉNERES DE PCDD/Fs E PCBs	WMS-01 (sedimento) [ng/kg]	VÓRTEX ^{a)} (5 mL DE n-HEXANO, n=2)			BANHO US ^{b)} (5 mL DE n-HEXANO, n=2)			SONDA US ^{c)} (5 mL DE n-HEXANO, n=2)		
		30 SEG. [ng/kg]	150 SEG. [ng/kg]	300 SEG. [ng/kg]	30 SEG. [ng/kg]	150 SEG. [ng/kg]	300 SEG. [ng/kg]	30 SEG. [ng/kg]	150 SEG. [ng/kg]	300 SEG. [ng/kg]
2,3,7,8-TCDF	52,5 ± 16	42	40	42	40	40	39	44	41	41
1,2,3,7,8-PeCDF	12,6 ± 5,0	12	11	12	18	14	11	27	11	11
2,3,4,7,8-PeCDF	18,5 ± 6,1	21	20	21	23	23	19	20	22	22
1,2,3,4,7,8-HxCDF	67,3 ± 24	54	53	56	65	50	51	55	54	54
1,2,3,6,7,8-HxCDF	20,3 ± 8,7	18	18	18	24	20	16	19	17	17
2,3,4,6,7,8-HxCDF	16 ± 8,0	17	16	17	20	19	16	16	17	17
1,2,3,7,8,9-HxCDF	2,68 ± 4,0	7	5	6	36	29	6	7	6	6
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	299 ± 73	245	245	245	256	264	227	242	258	258
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	15,1 ± 4,6	16	14	15	19	18	13	15	14	14
OCDF	509 ± 157	436	465	455	379	401	351	424	436	436
2,3,7,8-TCDD	17,7 ± 5,6	13	12	11	14	14	12	13	12	12
1,2,3,7,8-PeCDD	7,96 ± 2,8	9	12	8	10	10	9	10	10	10
1,2,3,4,7,8-HxCDD	8,66 ± 2,7	7	7	7	10	9	5	7	7	7
1,2,3,6,7,8-HxCDD	20,8 ± 4,8	17	16	17	19	20	15	19	18	18
1,2,3,7,8,9-HxCDD	17,3 ± 8,0	8	7	7	13	8	6	8	7	7
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	293 ± 63	255	255	259	266	259	222	257	258	258
OCDD	1899 ± 456	1775	1836	1894	1470	1539	1438	1771	1771	1771
3,4,4',5-TCB (IUPAC #81)	75 ± 79	50	46	48	48	51	49	28	55	55
3,3',4,4'-TCB (IUPAC #77)	1717 ± 520	622	587	592	575	625	593	637	645	645
2',3,4,4',5-PeCB (IUPAC #123)	209 ± 191	108	96	108	113	102	99	114	114	114
2,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #118)	8115 ± 1663	3519	3461	3607	3310	3573	3402	3691	3660	3660
2,3,4,4',5-PeCB (IUPAC #114)	207 ± 128	132	132	127	118	142	128	133	144	144
2,3,3',4,4'-PeCB (IUPAC #105)	3998 ± 951	1738	1728	1777	1805	1738	1654	1831	1805	1805
3,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #126)	84,9 ± 35	70	67	69	71	66	67	75	75	75
2,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #167)	330 ± 85	147	132	142	143	151	143	148	149	149
2,3,3',4,4',5-HxCB (IUPAC #156)	715 ± 248	323	299	396	315	337	331	340	337	337
2,3,3',4,4',5'-HxCB (IUPAC #157)	186 ± 81	70	69	69	68	71	68	76	74	74
3,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #169)	7,97 ± 5,3	<5 ^{d)}	<5 ^{d)}	<5 ^{d)}	<5 ^{d)}	<5 ^{d)}	<5 ^{d)}	<5 ^{d)}	<5 ^{d)}	<5 ^{d)}
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (IUPAC #189)	85,2 ± 17,8	41	41	41	40	42	39	42	42	42

Face a estes resultados, e pretendendo-se avaliar em particular a eficiência da técnica extrativa através de ultra-sons (banho e sonda), foram efetuados novos ensaios com o sedimento certificado DX-1 (*Wellington Laboratories – Ontário Canadá*).

Tabela 4.8. – Resultados dos ensaios de extração, através das técnicas de Soxhlet, banho e sonda de ultra-sons, efetuados com o sedimento certificado DX-1.

^{a)} A extração do sedimento certificado DX-1 (*Wellington Laboratories – Ontário Canadá*) pela técnica de Soxhlet foi efetuada com 350 ml de tolueno e durante 48 horas. ^{b)} A extração do sedimento certificado DX-1 pela técnica de sonda de ultra-sons foi efetuada com 3 ml de hexano (três extrações sucessivas de duração unitária de 4 minutos), à temperatura ambiente de 24°C, utilizando um equipamento da marca *Hielscher UP100H* (potência de ultra-sons 100 W e frequência de ultra-sons de 30 kHz), no qual foram selecionados o valor de 1 ciclo e uma percentagem de amplitude de 50%. ^{b)} A extração do sedimento certificado DX-1 pela técnica de banho de ultra-sons foi efetuada com 15 ml de hexano (três extrações sucessivas de duração unitária de 5 minutos), com banho termostatisado à temperatura de 30°C, utilizando um equipamento da marca *Ultrasonic 60 Larre* (potência de ultra-sons de 80-195 W, frequência de ultra-sons de 28-34 kHz e potência de aquecimento de 200 W).

CONGÉNERES DE PCDD/FS E PCBs	MRC DX-1 (sedimento) [ng/kg]	SOXHLET ^{a)} (48 HORAS COM TOLUENO) [ng/kg]	SONDA DE US ^{b)} (3 x 4 MIN. E 3 ML DE n-HEXANO) [ng/kg]	BANHO DE US ^{c)} (3 x 5 MIN. E 15 ML DE n-HEXANO) [ng/kg]
2,3,7,8-TCDF	89 ± 44	32	55	47
1,2,3,7,8-PeCDF	39 ± 14	40	43	38
2,3,4,7,8-PeCDF	62 ± 32	81	83	81
1,2,3,4,7,8-HxCDF	714 ± 276	639	689	662
1,2,3,6,7,8-HxCDF	116 ± 37	111	122	117
2,3,4,6,7,8-HxCDF	57 ± 36	56	61	61
1,2,3,7,8,9-HxCDF	28 ± 42	44	47	57
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2397 ± 796	2467	2283	2290
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	137 ± 62	152	144	153
OCDF	7122 ± 2406	6362	6395	6624
2,3,7,8-TCDD	263 ± 53	216	236	227
1,2,3,7,8-PeCDD	22 ± 8	28	33	28
1,2,3,4,7,8-HxCDD	23 ± 7	25	20	19
1,2,3,6,7,8-HxCDD	77 ± 27	75	77	72
1,2,3,7,8,9-HxCDD	53 ± 24	42	30	34
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	634 ± 182	654	649	606
OCDD	3932 ± 933	3904	3601	3709
3,4,4',5-TCB (IUPAC #81)	-	421	472	549
3,3',4,4'-TCB (IUPAC #77)	-	6519	5608	5337
2',3,4,4',5-PeCB (IUPAC #123)	-	991	1063	1268
2,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #118)	-	41977	40260	38702
2,3,4,4',5-PeCB (IUPAC #114)	-	1902	1889	1817
2,3,3',4,4'-PeCB (IUPAC #105)	-	23557	17473	16919
3,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #126)	-	206	242	284
2,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #167)	-	1174	6257	2195
2,3,3',4,4',5-HxCB (IUPAC #156)	-	3822	3542	3634
2,3,3',4,4',5'-HxCB (IUPAC #157)	-	727	826	871
3,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #169)	-	16	59	19
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (IUPAC #189)	-	337	372	360

A análise dos resultados da tabela 4.8, mostra que aumentando o tempo de extracção da amostra de sedimento DX-1, a eficiência da extracção por sonda e banho de ultra-sons, alcança valores de recuperação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com actividade de dioxina, obtidos com a utilização das técnicas extrativas por soxhlet e por ASE/PLE.

4.1.2.3.3. AMOSTRAS GASOSAS

No que respeita à validação da metodologia implementada, para a determinação dos PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em amostras gasosas, efetuaram-se ensaios de recuperação em dois níveis distintos de concentração, respetivamente um próximo do Limite de Quantificação do método (LQ) e o segundo a meio da curva de calibração. Os resultados obtidos nesses ensaios apresentam-se na tabela 4.9 (da página seguinte).

Tabela 4.9. – Resultados dos ensaios de extração por Soxhlet efetuados com espumas de poliuretano fortificadas.

Para a fortificação das espumas de poliuretano foram utilizados os padrões de congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina nativos (EPA1613PAR e WP-STK) e marcados (EN1948SS – padrão de amostragem, EN1948ES e WP-LCS – padrões de extração).

As micro-seringas utilizadas na adição destes padrões foram periodicamente verificadas em termos de precisão, exatidão e veracidade. Esta verificação foi efetuada, medindo em separado e por cinco vezes consecutivas, o peso de uma massa de água correspondente ao volume total da micro-seringa. Após esta operação, utilizou-se o valor médio das massas de água para determinar o volume médio medido pela micro-seringa. Salienta-se também, que o referido cálculo foi realizado com base no valor da densidade da água retirado de literatura científica, tendo o cuidado de o corrigir relativamente à temperatura da sala onde se efetuaram as medições. Como critério de rejeição para o uso de uma micro-seringa, ficou estabelecido, que o desvio entre o volume medido e o volume teórico não podia ultrapassar o limite de 5%.

CONGÊNERES DE PCDD/Fs E PCBs	SOXHLET (48 HORAS COM TOLUENO)			
	PADRÃO ADICIONADO (EPA1613PAR e WP-STK)	VALOR MÉDIO DA RECUPERAÇÃO OBTIDO	PADRÃO ADICIONADO (EPA1613PAR e WP-STK)	VALOR MÉDIO DA RECUPERAÇÃO OBTIDO
	NÍVEL DE CONCENTRAÇÃO PRÓXIMO DO LQ DO MÉTODO	NOS ENSAIOS (n=3)	NÍVEL DE CONCENTRAÇÃO A MEIO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO	NOS ENSAIOS (n=3)
	MASSA DE PADRÃO [ng]	MASSA DE PADRÃO [ng]	MASSA DE PADRÃO [ng]	MASSA DE PADRÃO [ng]
2,3,7,8-TCDF	0,02	0,03	0,2	0,2
1,2,3,7,8-PeCDF	0,10	0,11	1,0	1,1
2,3,4,7,8-PeCDF	0,10	0,11	1,0	1,1
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,10	0,10	1,0	1,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,10	0,10	1,0	1,0
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,10	0,11	1,0	1,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,10	0,10	1,0	1,0
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,10	0,11	1,0	1,1
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,10	0,10	1,0	1,1
OCDF	0,20	0,21	2,0	2,1
2,3,7,8-TCDD	0,02	0,03	0,2	0,2
1,2,3,7,8-PeCDD	0,10	0,11	1,0	1,1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,10	0,11	1,0	1,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,10	0,11	1,0	1,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,10	0,09	1,0	1,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,10	0,11	1,0	1,0
OCDD	0,20	0,20	2,0	2,0
3,4,4',5-TCB (IUPAC #81)	0,075	0,088	2,0	1,9
3,3',4,4'-TCB (IUPAC #77)	0,075	0,081	2,0	2,1
2',3,4,4',5-PeCB (IUPAC #123)	0,075	0,089	2,0	1,9
2,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #118)	0,075	-	2,0	2,3
2,3,4,4',5-PeCB (IUPAC #114)	0,075	0,084	2,0	1,9
2,3,3',4,4'-PeCB (IUPAC #105)	0,075	-	2,0	2,2
3,3',4,4',5-PeCB (IUPAC #126)	0,075	0,090	2,0	2,0
2,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #167)	0,075	0,095	2,0	2,0
2,3,3',4,4',5-HxCB (IUPAC #156)	0,075	-	2,0	2,0
2,3,3',4,4',5'-HxCB (IUPAC #157)	0,075	0,091	2,0	1,9
3,3',4,4',5,5'-HxCB (IUPAC #169)	0,075	0,087	2,0	2,0
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (IUPAC #189)	0,075	0,085	2,0	1,9

4.2. CAMPANHAS DE MONITORIZAÇÃO AMBIENTAL

Tendo sido descritas as metodologias analíticas desenvolvidas, implementadas e validadas, para a determinação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, vão agora ser abordadas as campanhas de monitorização realizadas em Portugal, no âmbito desta Tese Doutoral.

Durante o Programa Doutoral foram efetuadas duas campanhas de monitorização distintas. A primeira envolveu a caracterização dos níveis de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina junto da costa Portuguesa, utilizando para o efeito indicadores biológicos (designadamente, mexilhões e ovos de gaivota). No que respeita à segunda campanha, esta foi desenvolvida junto dos operadores do setor de atividade da produção de metais, ou seja, em siderurgias, fundições de metais ferrosos e fundições de metais não ferrosos.

A escolha das duas campanhas de monitorização resultou do facto de Portugal ter de cumprir obrigações, decorrentes da sua adesão à Convenção para a Proteção do Meio Marinho no Nordeste do Atlântico (OSPAR)³⁶, sendo que por outro lado as emissões industriais provenientes da utilização de processos térmicos ou de combustão, são também como já foi visto, uma das mais importantes fontes de introdução destes poluentes no ambiente.

4.2.1. MEXILHÃO

4.2.1.1. LOCALIZAÇÃO DOS PONTOS DE AMOSTRAGEM

Relativamente às campanhas de monitorização realizadas durante o Programa Doutoral, refere-se que foram efetuadas colheitas de amostras de mexilhão em 11 pontos de amostragem, abrangendo deste modo, toda a costa portuguesa. Na tabela 4.10 e na figura 4.5, apresentam-se os pontos de amostragem das campanhas de monitorização de mexilhão, bem como as respetivas coordenadas geográficas do sistema WGS84 (*World Geodetic System*, datado de 1984 e revisto em 2004, que atualmente é o sistema de referência de coordenadas geográficas utilizado pelo GPS - *Global Positioning System*).

³⁶ A Convenção OSPAR de 1992 é o instrumento que guia a cooperação internacional na protecção do ambiente marinho do Atlântico Nordeste. Esta convenção combinou e atualizou a Convenção de Oslo de 1972, sobre a imersão de resíduos no mar, e a Convenção de Paris de 1974, sobre as fontes de poluição marinha de origem telúrica.

Tabela 4.10. – Locais de amostragem das campanhas de monitorização de mexilhão (2008 e 2009).

A colheita das amostras foi efetuada em 12 praias de norte a sul de Portugal Continental, durante o ano de 2008, e em 11 praias durante o ano de 2009 (neste ano não foi efetuada a amostragem na Praia da Luz em Lagos).

PONTO DE AMOSTRAGEM	COORDENADAS WGS84	
	N (gg° mm' ss'')	O (gg° mm' ss'')
PRAIA DO MOLEDO (CAMINHA)	41° 50' 40,76''	8° 52' 15,35''
PRAIA DO NORTE (VIANA DO CASTELO)	41° 42' 01,02''	8° 51' 22,62''
PRAIA DO CABO DO MUNDO (MATOSINHOS)	41° 13' 29,37''	8° 43' 02,40''
PRAIA DA BARRA (AVEIRO)	40° 38' 26,24''	8° 45' 02,97''
PRAIA DE BUARCOS (FIGUEIRA DA FOZ)	40° 08' 47,37''	8° 52' 23,46''
PRAIA DE SÃO LOURENÇO (ERICEIRA)	39° 00' 48,79''	9° 25' 19,90''
PORTO DE PESCAS (SINES)	37° 57' 05,26''	8° 51' 52,27''
PRAIA DA ZAMBUJEIRA DO MAR (ODEMIRA)	37° 31' 27,40''	8° 47' 16,73''
PRAIA DO ZAVIAL (VILA DO BISPO)	37° 02' 45,40''	8° 52' 23,16''
PRAIA DA LUZ (LAGOS)	37° 05' 06,79''	8° 43' 44,25''
PRAIA DA BALEEIRA (ALBUFEIRA)	37° 05' 06,49''	8° 15' 18,63''
PRAIA DE VILA REAL DE SANTO ANTÓNIO (VILA REAL DE SANTO ANTÓNIO)	37° 10' 20,28''	7° 25' 18,85''

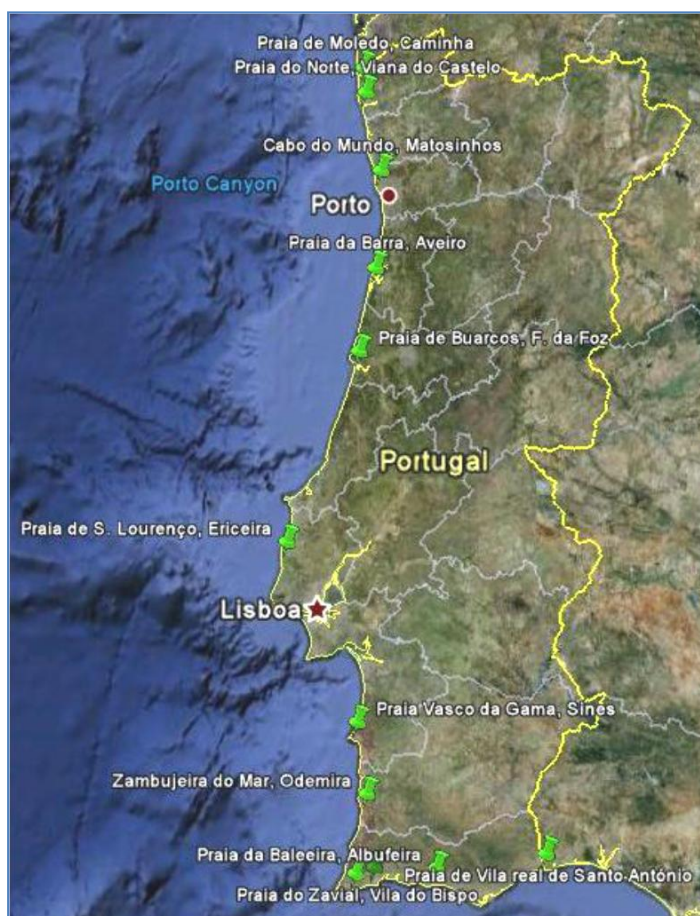


Figura 4.5. – Locais de amostragem das campanhas de monitorização de mexilhão (2008 e 2009).

4.2.1.2. CARATERÍSTICAS DAS AMOSTRAS DE MEXILHÃO

Foram amostrados entre 200 a 400 mexilhões em cada local, e por forma a minimizar a variabilidade natural dos indivíduos (em conformidade com as orientações definidas no programa JAMP), os mexilhões tinham de apresentar tamanhos compreendidos entre os 30 e os 60 mm (considerando as conchas inteiras sem as incrustações).

No total do programa foram efetuadas três campanhas de monitorização, respetivamente duas durante o ano de 2008 (1ª campanha durante os meses de Março/Abril e a 2ª no mês de Setembro) e uma no ano de 2009 (no mês de Março). Os tamanhos médios e número dos indivíduos recolhidos encontram-se discriminados na tabela 4.11, enquanto que na tabela 4.12 são apresentados os valores da percentagem de água e lípidos das amostras.

Tabela 4.11. – Caraterísticas físicas das amostras de mexilhão.

^{a)} Neste ano não foi efetuada a amostragem na Praia da Luz (Lagos)

PONTO DE AMOSTRAGEM	1ª CAMPANHA DE 2008 (MARÇO E ABRIL)		2ª CAMPANHA DE 2008 (SETEMBRO)		CAMPANHA DE 2009 (MARÇO)	
	TAMANHO MÉDIO (mm)	N.º DE INDIVÍDUOS	TAMANHO MÉDIO (mm)	N.º DE INDIVÍDUOS	TAMANHO MÉDIO (mm)	N.º DE INDIVÍDUOS
PRAIA DO MOLEDO (CAMINHA)	44,2	203	42,0	427	44,1	400
PRAIA DO NORTE (VIANA DO CASTELO)	40,5	240	44,2	240	52,0	400
PRAIA DO CABO DO MUNDO (MATOSINHOS)	42,9	194	46,2	400	44,9	400
PRAIA DA BARRA (AVEIRO)	55,5	200	53,9	199	49,8	400
PRAIA DE BUARCOS (FIGUEIRA DA FOZ)	39,8	202	38,6	400	42,4	400
PRAIA DE SÃO LOURENÇO (ERICEIRA)	32,6	171	34,0	400	31,8	252
PORTO DE PESCAS (SINES)	44,1	221	52,2	177	48,7	400
PRAIA DA ZAMBUJEIRA DO MAR (ODEMIRA)	42,3	271	36,6	446	38,2	400
PRAIA DO ZAVIAL (VILA DO BISPO)	40,4	320	41,2	400	44,1	400
PRAIA DA LUZ (LAGOS)	39,7	202	33,0	288	- ^{a)}	- ^{a)}
PRAIA DA BALEEIRA (ALBUFEIRA)	37,2	215	43,2	400	47,6	400
PRAIA DE VILA REAL DE SANTO ANTÓNIO (VILA REAL DE SANTO ANTÓNIO)	41,8	282	54,4	277	47,6	400

Tabela 4.12. – Características das amostras de mexilhão (água e lípidos) em peso fresco.

^{a)} Neste ano não foi efetuada a amostragem na Praia da Luz (Lagos).

PONTO DE AMOSTRAGEM	1ª CAMPANHA DE 2008 (MARÇO E ABRIL)		2ª CAMPANHA DE 2008 (SETEMBRO)		CAMPANHA DE 2009 (MARÇO)	
	% H ₂ O	% LIPÍDICA	% H ₂ O	% LIPÍDICA	% H ₂ O	% LIPÍDICA
PRAIA DO MOLEDO (CAMINHA)	83	1,0	78	2,4	84	2,2
PRAIA DO NORTE (VIANA DO CASTELO)	82	1,9	78	2,4	82	1,9
PRAIA DO CABO DO MUNDO (MATOSINHOS)	63	4,5	79	2,2	83	1,3
PRAIA DA BARRA (AVEIRO)	52	2,7	78	2,8	84	2,0
PRAIA DE BUARCOS (FIGUEIRA DA FOZ)	82	2,0	79	2,0	83	2,3
PRAIA DE SÃO LOURENÇO (ERICEIRA)	83	1,2	81	2,2	82	2,7
PORTO DE PESCAS (SINES)	81	2,9	76	3,8	81	3,9
PRAIA DA ZAMBUJEIRA DO MAR (ODEMIRA)	85	2,0	78	1,9	80	2,8
PRAIA DO ZAVIAL (VILA DO BISPO)	81	1,6	78	2,7	82	1,6
PRAIA DA LUZ (LAGOS)	79	1,7	79	2,2	- ^{a)}	- ^{a)}
PRAIA DA BALEIRA (ALBUFEIRA)	80	2,0	78	2,6	84	1,9
PRAIA DE VILA REAL DE SANTO ANTÓNIO (VILA REAL DE SANTO ANTÓNIO)	76	2,5	74	3,3	80	1,5

A análise da tabela 4.12 permite verificar que tanto as percentagens de água como o teor lipídico têm valores relativamente semelhantes na generalidade das amostras. Contudo salienta-se, que para estas amostras, os valores obtidos para a percentagem de lípidos são relativamente baixos, uma vez, que não excedem 5% do seu peso fresco.

4.2.1.3. RESULTADOS OBTIDOS NAS CAMPANHAS DO MEXILHÃO

Os resultados obtidos nas três campanhas de monitorização de mexilhão, para os congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, apresentam-se na tabela 4.13 e na figura 4.6.

Teor de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina

Tabela 4.13. – Teor de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina nas amostras de mexilhão.

Os valores são apresentados em concentração de congénere por peso fresco de amostra (OMS-TEF, Revisão de 2005). A primeira coluna corresponde aos designados Limites Inferiores de Concentração (calculados considerando igual a zero, os valores dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, cuja concentração seja inferior ao limite de quantificação do método). A segunda coluna, com os valores a negrito, corresponde aos designados Limites Superiores de Concentração (calculados considerando iguais ao limite de quantificação do método, os valores dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, cuja concentração seja inferior ao limite de quantificação do método).

^{a)} Nesta campanha apenas foram determinados os congéneres de PCBs com atividade de dioxina.

^{b)} Neste ano não foi efetuada a amostragem na Praia da Luz (Lagos).

PONTO DE AMOSTRAGEM	1ª CAMPANHA DE 2008 (MARÇO E ABRIL)		2ª CAMPANHA DE 2008 (SETEMBRO)		CAMPANHA DE 2009 (MARÇO)		BIBLIOGRAFIA INTERNACIONAL
	TOTAL ^{a)} ΣPCBs [ng OMS-TEQ/kg p.f.]		TOTAL ΣPCDD/Fs + PCBs [ng OMS-TEQ/kg p.f.]		TOTAL ΣPCDD/Fs + PCBs [ng OMS-TEQ/kg p.f.]		TOTAL ΣPCDD/Fs + PCBs 0,38 ng OMS-TEQ/kg p.f. [Ana Bocio et al., 2007] [2]
PRAIA DO MOLEDO (CAMINHA)	0,23	0,23	0,025	0,89	0,057	0,93	TOTAL ΣPCDD/Fs 0,91 ng OMS-TEQ/kg p.f. [Shunji Hashimoto et al., 1999] [3]
PRAIA DO NORTE (VIANA DO CASTELO)	0,31	0,32	0,0061	0,90	0,39	0,85	
PRAIA DO CABO DO MUNDO (MATOSINHOS)	1,9	1,9	0,43	1,2	0,068	0,77	
PRAIA DA BARRA (AVEIRO)	1,3	1,3	0,11	0,88	0,33	0,94	
PRAIA DE BUARCOS (FIGUEIRA DA FOZ)	0,35	0,35	0,32	1,2	0,29	0,91	
PRAIA DE SÃO LOURENÇO (ERICEIRA)	0,38	0,38	0,26	0,98	0,055	0,84	TOTAL ΣPCDD/Fs 2,3 - 3,5 ng OMS-TEQ/kg p.f. [Van Leeuwen et al., 2007] [4]
PORTO DE PESCAS (SINES)	0,53	0,56	0,0066	1,0	0,032	0,80	
PRAIA DA ZAMBUJEIRA DO MAR (ODEMIRA)	0,00071	0,010	0,021	1,7	1,5	2,2	
PRAIA DO ZAVIAL (VILA DO BISPO)	0,27	0,27	0,028	1,1	0,015	0,75	
PRAIA DA LUZ (LAGOS)	0,15	0,15	0,046	2,5	- ^{b)}		
PRAIA DA BALEEIRA (ALBUFEIRA)	0,22	0,23	0,015	0,9	0,058	0,71	
PRAIA DE VILA REAL DE SANTO ANTÓNIO (VILA REAL DE SANTO ANTÓNIO)	0,22	0,22	0,16	1,2	1,0	1,6	

A análise da tabela 4.13 mostra que as concentrações detetadas para a soma dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina foram inferiores a 3 ng OMS-TEQ/kg (peso fresco), em todos os pontos de amostragem. Este facto é bastante significativo, quer em termos ambientais, quer relativamente à saúde humana das pessoas que habitam próximo dos pontos referenciados. Neste sentido, e atendendo que o Regulamento (CE) N.º 1881/2006, de 19 de Dezembro, da Comissão que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios, estabelece como limite o valor de 8 ng OMS-TEQ/kg (peso fresco) para a soma dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs, que podem estar presentes em certos géneros alimentícios derivados de peixe (nomeadamente, o mexilhão) [5]. E por outro lado, tendo em consideração que o valor máximo obtido nas três campanhas de monitorização foi inferior a esse limite (respetivamente, 2,5 ng OMS-

TEQ (peso fresco) – Praia da Luz em Lagos, 2.ª Campanha de 2008 – Limites Superiores de Concentração), é pertinente considerar, que o estado ambiental das zonas monitorizadas não manifesta sinais de problemas graves, sob o ponto de vista da contaminação por PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Finalmente salienta-se, que os resultados da tabela 4.13 permitem ainda verificar, que as concentrações de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, que foram detetadas durante as três campanhas de monitorização, são da ordem de grandeza dos valores reportados pela literatura científica [2,3,4]

Por forma, a ser mais fácil de entender a informação apresentada na tabela 4.13 segue-se a figura 4.6, a qual contém numa forma gráfica, os resultados da concentração total dos congéneres e a respetiva tendência temporal, ao longo das três campanhas de monitorização efetuadas.

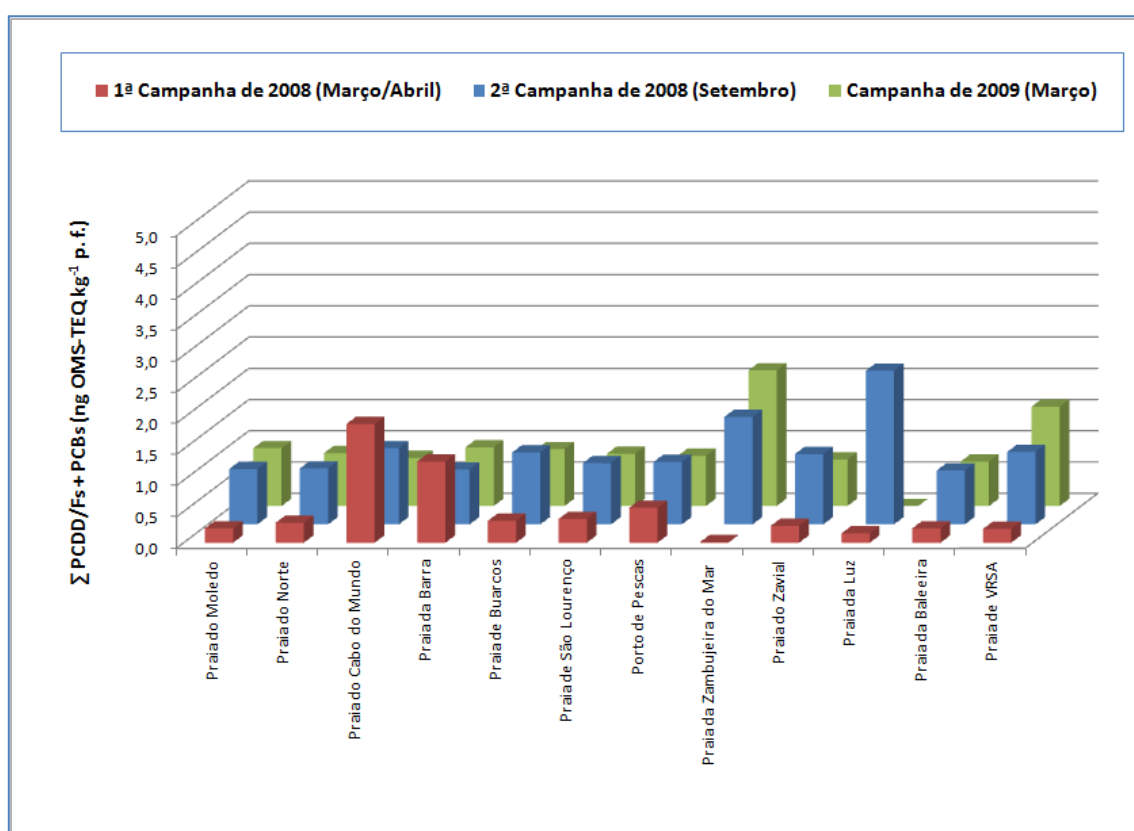


Figura 4.6. – Gráfico do teor de PCDD/Fs e PCBs nas amostras de mexilhão (campanhas de 2008 e 2009).

Nesta figura os resultados apresentados, correspondem aos Limites Superiores de Concentração (calculados considerando iguais ao limite de quantificação do método, os valores dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, cuja concentração seja inferior ao limite de quantificação do método). Salienta-se também, que na 1ª campanha do ano de 2008 apenas foram determinados os congéneres de PCBs com atividade de dioxina.

Em seguida, nas figuras 4.7 e 4.8, apresentam-se os perfis isoméricos dos congéneres de PCDD/Fs nas amostras de mexilhão durante as campanhas efetuadas. Por outro lado, na figura 4.9 apresenta-se um dos cromatogramas referentes à análise de PCDD/Fs numa amostra de mexilhão.

Perfis isoméricos de PCDD/Fs nas amostras de mexilhão

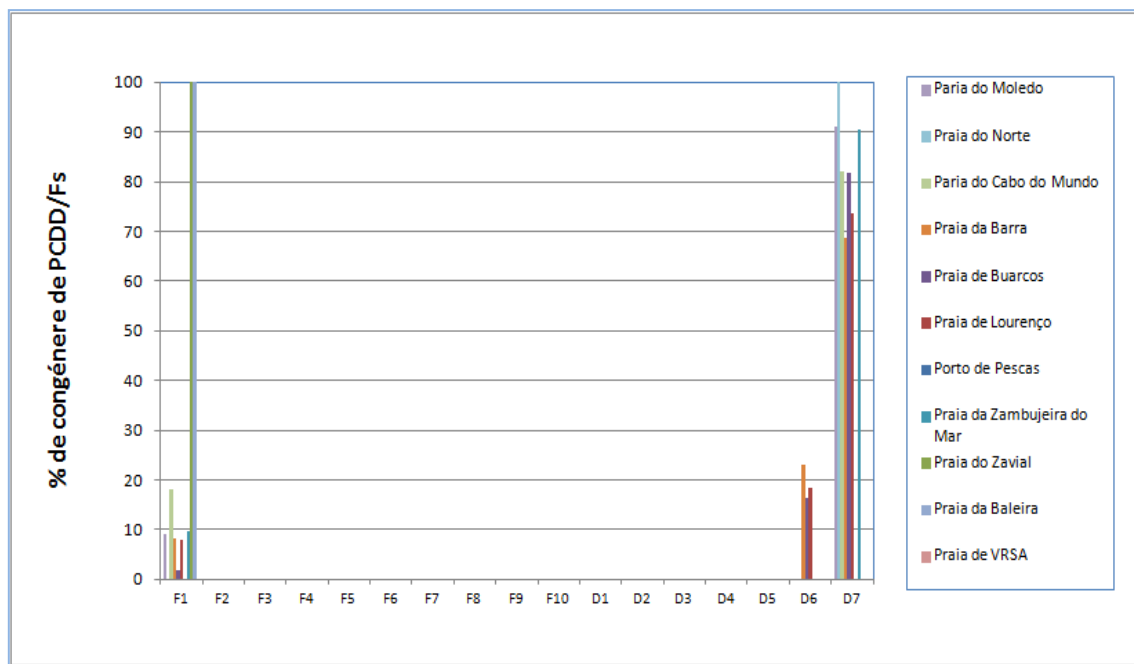


Figura 4.7. – Perfis isoméricos dos PCDD/Fs nas amostras de mexilhão (2.ª campanha de 2008).

F1 – 2,3,7,8-TCDF, F2 – 1,2,3,7,8-PeCDF, F3 – 2,3,4,7,8-PeCDF, F4 – 1,2,3,4,7,8-HxCDF, F5 – 1,2,3,6,7,8-HxCDF, F6 – 2,3,4,6,7,8-HxCDF, F7 – 1,2,3,7,8,9-HxCDF, F8 – 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, F9 – 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF e F10 – OCDF, D1 – 2,3,7,8-TCDD, D2 – 1,2,3,7,8-PeCDD, D3 – 1,2,3,4,7,8-HxCDD, D4 – 1,2,3,6,7,8-HxCDD, D5 – 1,2,3,7,8,9-HxCDD, D6 – 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD e D7 – OCDD.

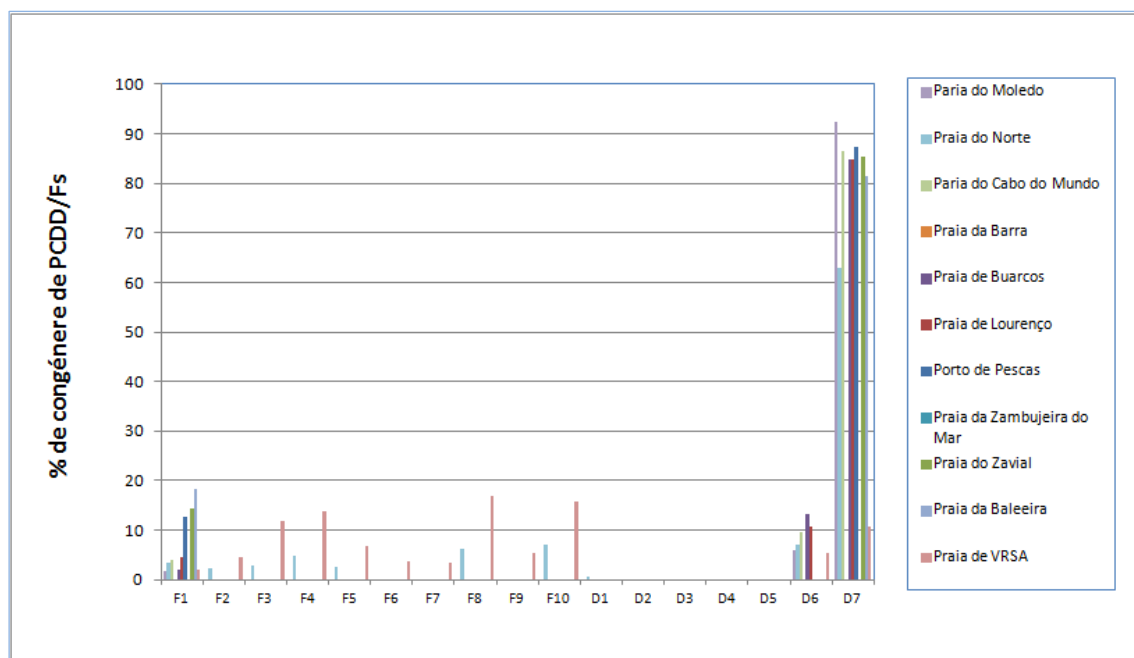


Figura 4.8. – Perfis isoméricos dos PCDD/Fs nas amostras de mexilhão (campanha de 2009).

F1 – 2,3,7,8-TCDF, F2 – 1,2,3,7,8-PeCDF, F3 – 2,3,4,7,8-PeCDF, F4 – 1,2,3,4,7,8-HxCDF, F5 – 1,2,3,6,7,8-HxCDF, F6 – 2,3,4,6,7,8-HxCDF, F7 – 1,2,3,7,8,9-HxCDF, F8 – 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, F9 – 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF e F10 – OCDF, D1 – 2,3,7,8-TCDD, D2 – 1,2,3,7,8-PeCDD, D3 – 1,2,3,4,7,8-HxCDD, D4 – 1,2,3,6,7,8-HxCDD, D5 – 1,2,3,7,8,9-HxCDD, D6 – 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD e D7 – OCDD.

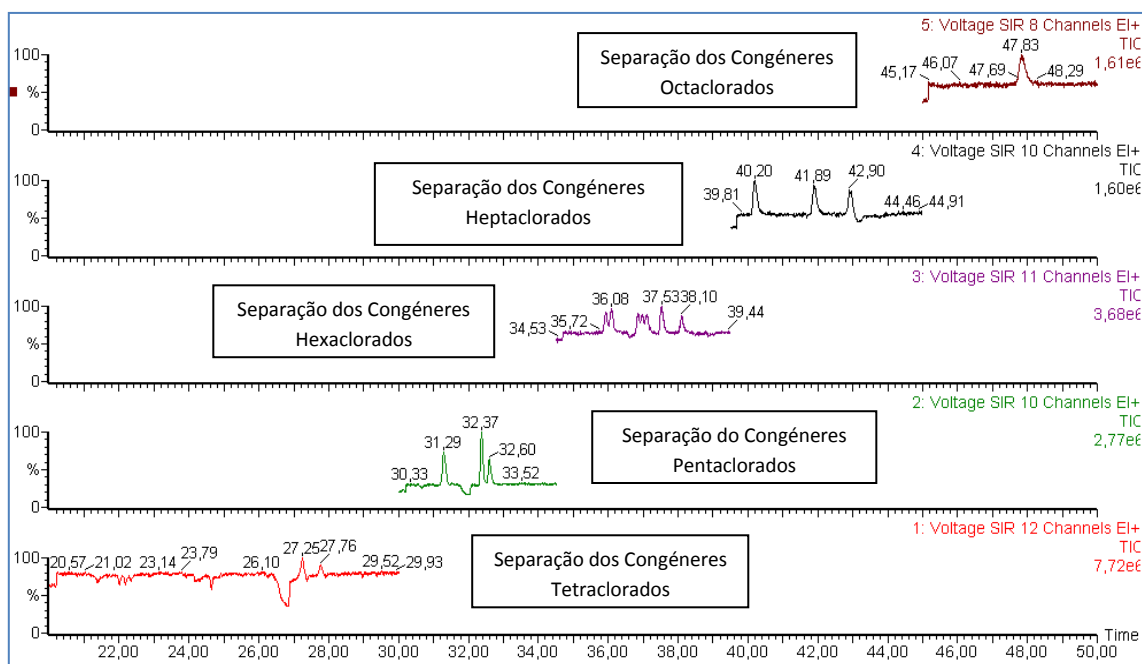


Figura 4.9. – Cromatograma obtido durante na análise de PCDD/Fs numa amostra de mexilhão.

Este cromatograma foi obtido num Cromatógrafo Gasoso (*Agilent 6890 Series*) acoplado a um Espectrómetro de Massa de Alta Resolução (*Micromass AutoSpec-Ultima*), tendo sido utilizada para a separação dos congêneres, uma coluna cromatográfica capilar VF-5MS da marca *Varian* (com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura de filme).

Nas figuras 4.10 e 4.11, apresentam-se os perfis isoméricos dos congêneres de PCBs com atividade de dioxina nas amostras de mexilhão

Perfis isoméricos de PCBs com atividade de dioxina nas amostras de mexilhão

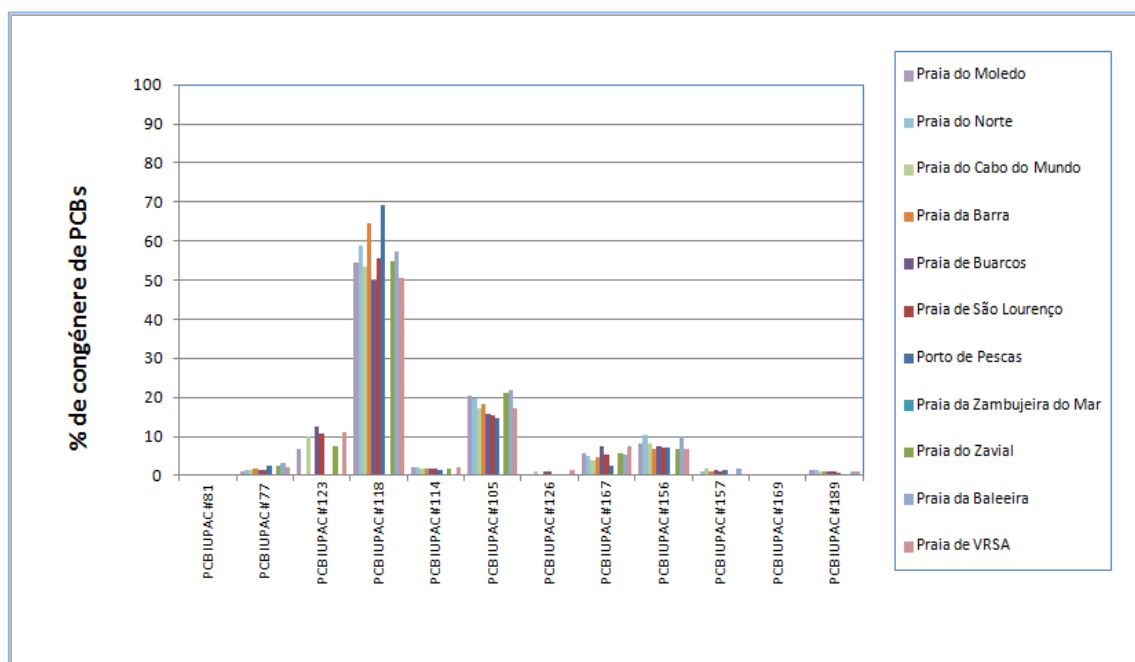


Figura 4.10. - Perfis isoméricos dos PCBs nas amostras de mexilhão (2.ª campanha de 2008).

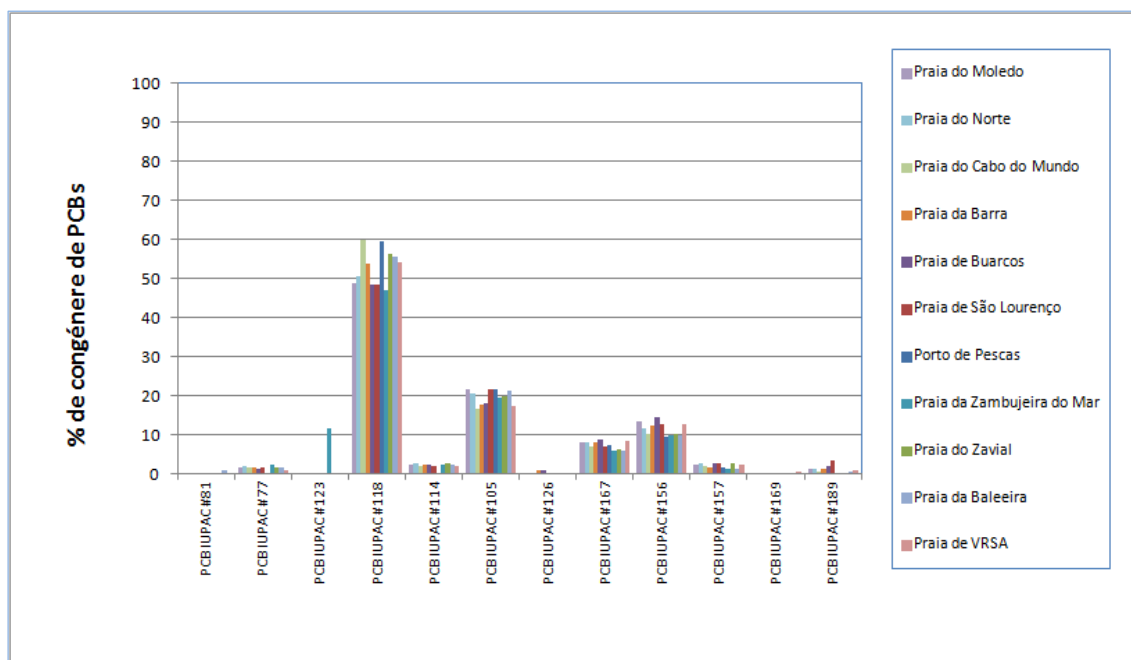


Figura 4.11. – Perfis isoméricos dos PCBs nas amostras de mexilhão (campanha de 2009).

Relativamente aos perfis isoméricos das amostras, as figuras 4.7/4.8 e 4.10/4.11, mostram que no caso dos congêneres de PCDD/Fs, o isómero predominante corresponde ao OCDD. Verifica-se também, que a presença dos policlorodibenzofuranos predomina sobre a das policlorodibenzo-*p*-dioxinas. No que respeita aos congêneres de PCBs com atividade de dioxina, verifica-se que aqueles para os quais, se obtiveram valores mais elevados de concentração foram os PCB IUPAC #118, PCB IUPAC #105, PCB IUPAC #167 e PCB IUPAC #156.

De modo análogo, apresenta-se na figura 4.12, um dos cromatogramas referentes à análise de PCBs com atividade de dioxina numa amostra de mexilhão.

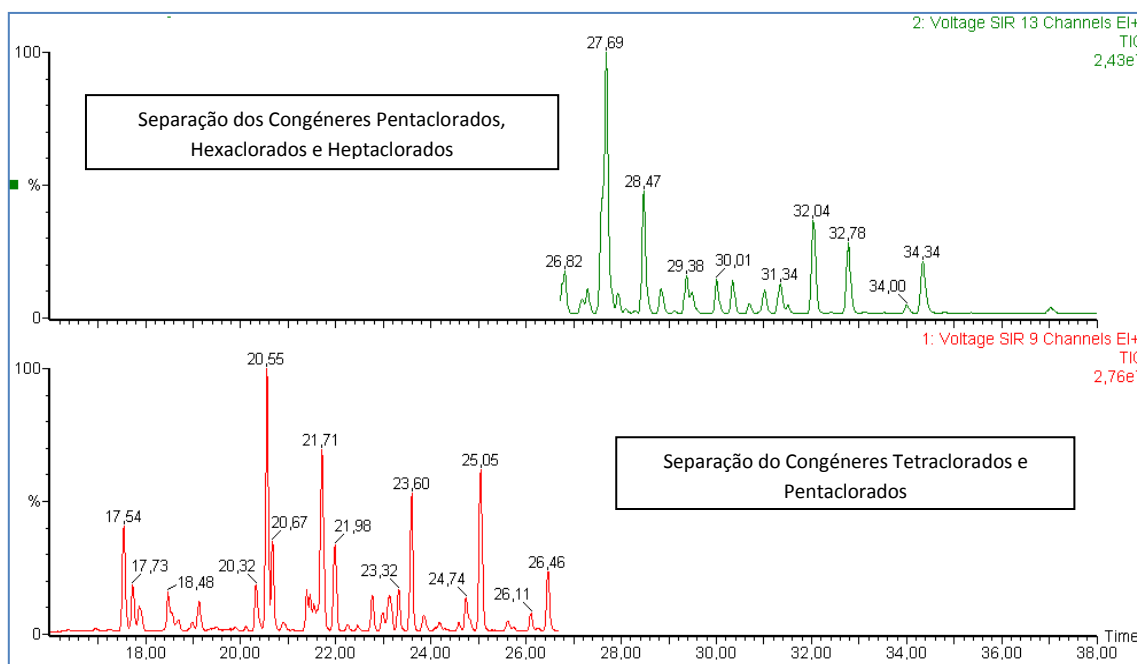


Figura 4.12. - Cromatograma obtido na análise de PCBs com atividade de dioxina numa amostra de mexilhão.

Este cromatograma foi obtido num Cromatógrafo Gasoso (*Agilent 6890 Series*) acoplado a um Espectrómetro de Massa de Alta Resolução (*Micromass AutoSpec-Ultima*), tendo sido utilizada para a separação dos congêneres, uma coluna cromatográfica capilar VF-5MS da marca *Varian* (com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura de filme).

4.2.2. OVOS DE GAIVOTA

4.2.2.1. LOCALIZAÇÃO DOS PONTOS DE AMOSTRAGEM

Junto à costa portuguesa, as gaivotas-de-patas-amarelas realizam a postura entre Abril e Maio, e usualmente, costumam pôr um máximo de 3 ovos por ninho. Assim, foi contactado o Instituto de Conservação da Natureza, I.P. (ICN), de modo, a que fosse possível efetuar a recolha de um único ovo em cada ninho. Foram realizadas duas campanhas de monitorização de ovos de gaivota no Parque Natural da Ilha da Berlenga, durante os anos de 2008 e 2009, e coube aos técnicos do ICN, proceder à sua colheita. A título informativo, salienta-se também, que as gaivotas existentes na Ilha da Berlenga fazem parte de uma colónia com 23000 a 25000 indivíduos, de acordo com o censo realizado em 2008, representando portanto uma das maiores colónias da Península Ibérica.

4.2.2.2. CARATERÍSTICAS DAS AMOSTRAS DE OVOS DE GAIVOTA

Foi também tomado especial cuidado, no sentido de garantir que os ovos pertenciam à primeira postura e que estavam frescos, isto é, tinham sido recolhidos no período de 1 a 5 dias de incubação (o período de incubação dos ovos da gaivota-de-patas-amarelas é de 28 dias).

Relativamente ao procedimento de amostragem, ele consistiu em retirar de forma aleatória, apenas um ovo de cada ninho pertencente à primeira postura, até se obter um total de 12 ovos. Os ovos

foram identificados e acondicionados, tendo o procedimento sido repetido mais duas vezes em diferentes partes da Ilha da Berlenga. Deste modo, foi colhido um total de 36 ovos na colónia, sendo que cada grupo de 12 pertenceu a uma de três zonas de amostragem, que havia sido previamente selecionada. Posteriormente, os ovos foram enviados para o Laboratório de Referência do Ambiente (LRA) da Agência Portuguesa do Ambiente, I.P. (APA).

Teor de água, lípidos e PCDD/Fs

Os resultados obtidos para a determinação de PCDD/Fs em ovos de gaivota da espécie *Larus michahellis* (gaivota-de-patas-amarelas), nas duas campanhas de monitorização efetuadas no Parque Natural da Ilha da Berlenga, apresentam-se na tabela 4.14.

Tabela 4.14. – Teor água, lípidos e PCDD/Fs nos ovos de gaivota.

Os valores são apresentados referem-se às concentração de congénere por peso fresco de amostra (OMS-TEF, Revisão de 2005). A primeira coluna corresponde aos designados Limites Inferiores de Concentração (calculados considerando igual a zero, os valores dos congéneres de PCDD/Fs, cuja concentração seja inferior ao limite de quantificação do método). A segunda coluna, com os valores a negrito, corresponde aos designados Limites Superiores de Concentração (calculados considerando iguais ao limite de quantificação do método, os valores dos congéneres de PCDD/Fs, cuja concentração seja inferior ao limite de quantificação do método).

Gaivota <i>Larus michahellis</i> (gaivota-de-patas-amarelas)	CAMPANHA DE 2008 (ABRIL/MAIO)			CAMPANHA DE 2009 (ABRIL/MAIO)			
	% H ₂ O	% LIPÍDICA	TOTAL Σ PCDD/Fs [ng OMS-TEQ/kg p.f.]		% H ₂ O	% LIPÍDICA	TOTAL Σ PCDD/Fs [ng OMS-TEQ/kg p.f.]
COLÓNIA DA ILHA DA BERLENGA	74	13	1,0	1,0	75	12	0,67 0,76
BIBLIOGRAFIA INTERNACIONAL: 2,88 ng OMS-TEQ/kg peso seco (Pastor et al., 1995) [6]							
COLÓNIA DA ILHA DA BERLENGA: 3,9 ng OMS-TEQ/kg peso seco (LIMITES SUPERIORES REFERENTES AO ANO DE 2008) 3,1 ng OMS-TEQ/kg peso seco (LIMITES SUPERIORES REFERENTES AO ANO DE 2009)							

Os resultados da tabela 4.14 mostram que os níveis de concentração dos congéneres de PCDD/Fs detetados em Portugal, não são diferentes em ordem de grandeza, daqueles que se encontram reportados pela literatura científica internacional (respetivamente, 3,9 e 3,1 ng OMS-TEQ/kg (peso seco) durante as campanhas de 2008 e 2009 – Limites Superiores de Concentração) [6].

Apresenta-se em seguida o perfil isomérico obtido para os congéneres de PCDD/Fs, nas amostras de ovos de gaivota durante as campanhas de monitorização efetuadas, bem como um dos cromatogramas obtidos durante a análise de PCDD/Fs nessas amostras.

Perfis isoméricos de PCDD/Fs nas amostras de ovos de gaivota

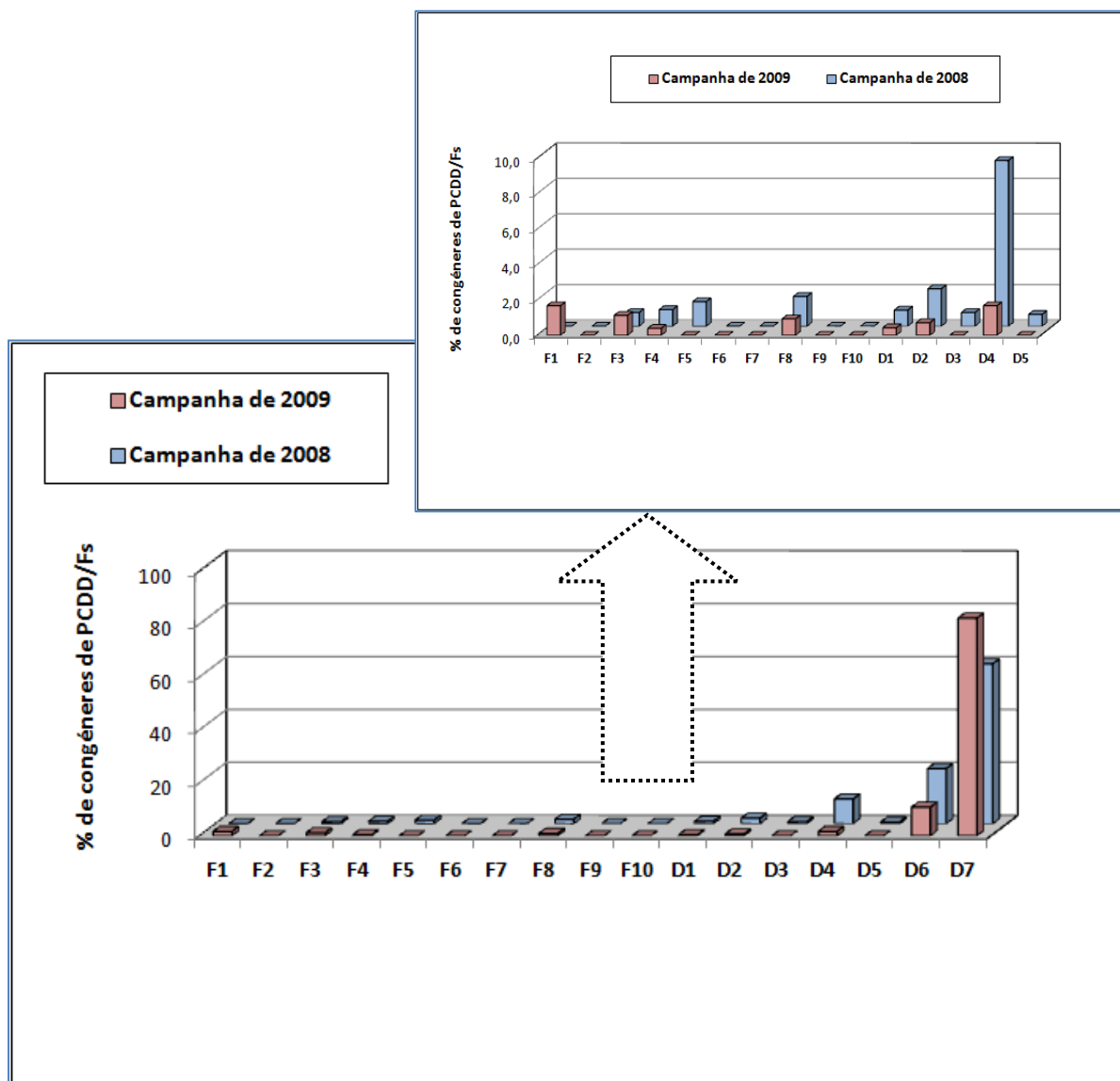


Figura 4.13. – Perfis isoméricos dos PCDD/Fs nas amostras de ovos de gaivota (campanhas de 2008 e 2009).

F1 – 2,3,7,8-TCDF, F2 – 1,2,3,7,8-PeCDF, F3 – 2,3,4,7,8-PeCDF, F4 – 1,2,3,4,7,8-HxCDF, F5 – 1,2,3,6,7,8-HxCDF, F6 – 2,3,4,6,7,8-HxCDF, F7 – 1,2,3,7,8,9-HxCDF, F8 – 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, F9 – 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF e F10 – OCDF, D1 – 2,3,7,8-TCDD, D2 – 1,2,3,7,8-PeCDD, D3 – 1,2,3,4,7,8-HxCDD, D4 – 1,2,3,6,7,8-HxCDD, D5 – 1,2,3,7,8,9-HxCDD, D6 – 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD e D7 – OCDD.

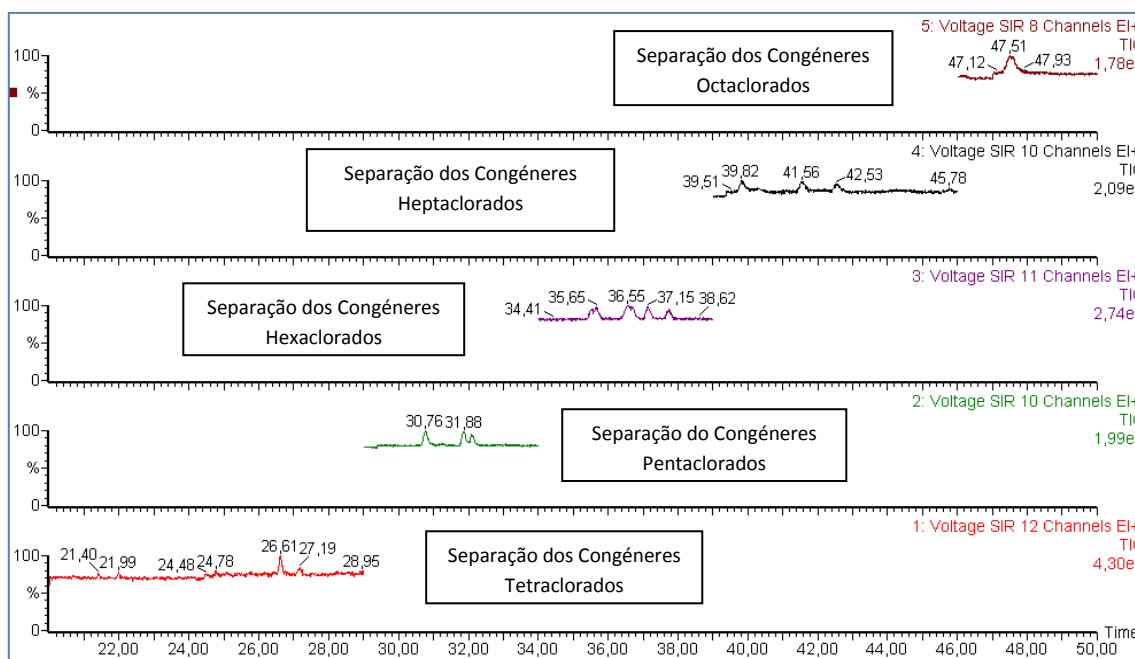


Figura 4.14. – Cromatograma obtido durante na análise de PCDD/Fs numa amostra de ovos de gaivota.

Este cromatograma foi obtido num Cromatógrafo Gasoso (*Agilent 6890 Series*) acoplado a um Espectrómetro de Massa de Alta Resolução (*Micromass AutoSpec-Ultima*), tendo sido utilizada para a separação dos congéneres, uma coluna cromatográfica capilar VF-5MS da marca *Varian* (com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme).

Relativamente aos perfis isoméricos dos congéneres de PCDD/Fs obtidos para as amostras de ovos de gaivota, verifica-se que são diferentes dos que se obtiveram para as amostras de mexilhão (figura 4.7 e 4.8). Assim, embora em ambas as matrizes (mexilhão e ovos de gaivota), os congéneres predominantes sejam os OCDD, verifica-se que no caso das amostras de ovos, quase não se detetam os PCDDs, por oposição com o que sucede com as amostras de mexilhão. Esta diferença pode ser explicada, pelo facto das duas espécies ocuparem posições distintas na cadeia alimentar, mas também, pelas diferentes fontes de assimilação dos congéneres. Constata-se ainda, que os resultados obtidos para as amostras de ovos, revelam a presença do congénere 2,3,7,8-TCDD (respetivamente, com uma concentração de 0,20 ng OMS-TEQ/kg de peso fresco na campanha de 2008 e 0,16 ng OMS-TEQ/kg de peso fresco na campanha de 2009). Este facto é relevante, pois tal como já foi enunciado, este é o congénere mais tóxico de ambas as famílias de PCDDs e PCDFs.

4.2.3. EFLUENTES GASOSOS DE UNIDADES INDUSTRIAIS

No âmbito das fontes de emissão de congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina para o meio ambiente, existe um setor de atividade que possui especial relevância. Esse setor corresponde à atividade de produção e transformação de metais. Utilizando o recurso a processos térmicos ou de combustão, da ação da sua atividade, resulta a emissão de congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, tal como foi abordado do Capítulo da Introdução.

No âmbito deste Programa Doutoral, foi realizada uma campanha de monitorização de amostras de efluentes gasosos em Portugal continental. Os efluentes foram colhidos na principal fonte fixa de

emissão pertencente a cada uma das 10 unidades industriais, do sector de atividade de produção e transformação de metais, que participaram no estudo.

Tal como enunciado, o estudo considerou 10 unidades industriais, sendo que duas consistiram em siderurgias pertencentes à categoria de atividade 2.2 do Anexo I do Decreto-Lei n.º 173/2008, de 26 de Agosto (Instalações de produção de gusa ou aço, fusão primária ou secundária, incluindo os equipamentos de vazamento contínuo com uma capacidade superior a 2,5 t por hora) [7]. Foram também monitorizadas as emissões provenientes de outras duas unidades industriais, tendo sido consideradas para este caso, as fundições de metais ferrosos pertencentes à categoria de atividade 2.4 do Anexo I do mesmo diploma legal (Fundições de metais ferrosos com uma capacidade de produção superior a 20 t por dia). E finalmente, as restantes seis unidades industriais inseridas no estudo, foram fundições de metais não ferrosos pertencentes à categoria de atividade 2.5B do Anexo I do referido Decreto-Lei (Instalações para a fusão de metais não ferrosos, incluindo ligas, produtos de recuperação, afinação, moldagem em fundição, com uma capacidade de fusão superior a 4 t por dia de chumbo e de cádmio ou a 20 t por dia de todos os outros metais).

4.2.3.1. LOCALIZAÇÃO DOS PONTOS DE AMOSTRAGEM

A localização das unidades industriais envolvidas no estudo abrangeu as duas maiores áreas metropolitanas de Portugal, tendo portanto sido monitorizadas, 6 instalações na área metropolitana de Lisboa (respetivamente, uma siderurgia - E1, uma fundição de metais ferrosos - E4 e quatro fundições de metais não ferrosos - E6, E7, E9 e E10) e 4 na do Porto (designadamente, uma siderurgia - E2, uma fundição de metais ferrosos - E3 e duas fundições de metais não ferrosos - E5 e E8), tal como se apresenta na figura 5.15 (da página seguinte).

Estas áreas correspondem às zonas do país onde a concentração populacional é mais significativa, pelo que, este foi um dos critérios utilizados na seleção das áreas do estudo. Convém também reconhecer, que a informação resultante deste programa de monitorização é muito importante, uma vez, que permite avaliar o grau de exposição humana e o nível de emissão anual destes poluentes. Neste sentido, estes resultados contribuem para melhorar a fiabilidade dos dados utilizados na elaboração do inventário nacional e europeu das emissões atmosféricas (Regulamento (CE) n.º 166/2006, de 18 de Janeiro, do Parlamento Europeu e do Conselho relativo à criação do Registo Europeu das Emissões e Transferências de Poluentes (PRTR) e que altera as Directivas 91/689/CEE e 96/61/CE do Conselho) [8].

A Área Metropolitana de Lisboa é uma pessoa coletiva de direito público que constitui uma forma específica de associação dos municípios da Grande Lisboa e da Península de Setúbal. Ela é composta por 18 Municípios (designadamente, Alcochete, Almada, Amadora, Barreiro, Cascais, Loures, Mafra, Moita, Montijo, Odivelas, Oeiras, Palmela, Seixal, Sesimbra, Setúbal, Sintra e Vila Franca de Xira). Esta área possui a maior concentração populacional e económica de Portugal, corresponde a 3,3% da área total de Portugal (aproximadamente 3039 km²), e é onde residem, quase 3 milhões de habitantes (2819433 dados de 2008, o que perfaz cerca de um 25% da população portuguesa). Ao nível económico concentra cerca de 25% da população ativa, 30% das empresas nacionais, 33% do emprego e contribui em mais de 36% para o valor do PIB nacional. Ambientalmente possui uma costa atlântica com cerca de 150 km e uma frente ribeirinha de cerca de 200 km, apresentando portanto, uma grande variedade morfológica e abundante riqueza natural. Estas características

conferem-lhe um potencial ambiental, paisagístico, económico e de lazer que importa preservar e valorizar. Salienta-se também, que possui dois grandes estuários (nomeadamente, o Tejo e o Sado) e cinco áreas protegidas que estão integradas na Rede Natura 2000 [9].

Por outro lado, a Área Metropolitana do Porto é uma pessoa coletiva de direito público que constitui uma forma específica de associação dos municípios do grande Porto. Ela é constituída por 16 Municípios (designadamente, Arouca, Espinho, Gondomar, Maia, Matosinhos, Oliveira de Azeméis, Porto, Póvoa de Varzim, Santa Maria da Feira, Santo Tirso, São João da Madeira, Trofa, Vale de Cambra, Valongo, Vila do Conde e Vila Nova de Gaia). Esta área metropolitana é uma das maiores de Portugal (aproximadamente com 1556 km²), correspondendo a 1,7% da área total de Portugal, e é onde residem, quase de 1,5 milhões de habitantes (1684901 dados de 2009, o que perfaz cerca de 16% da população portuguesa). Ao nível económico concentra cerca de 17% da população ativa e contribui em mais de 11% para o valor do PIB nacional. A área metropolitana do Porto dispõe de um enquadramento ambiental significativo, no qual se destacam, as áreas do Mindelo, da Serra de Santa Justa e Pias, da Barrinha de Esmoriz, da Serra da Freita e o Estuário do Douro [10].



Figura 4.15. – Localização das unidades industriais que participaram na campanha de monitorização de efluentes gasosos.

E1 e E2 correspondem a siderurgias, E3 e E4 a fundições de metais ferrosos e E5, E6, E7, E8, E9 e E10 a fundições de metais não ferrosos.

4.2.3.2. RESULTADOS OBTIDOS NA CAMPANHA DE EFLUENTES GASOSOS EM UNIDADES INDUSTRIAIS

Os resultados obtidos durante a campanha de monitorização de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, efetuada em 10 unidades industriais do setor de atividade da produção e transformação de metais, são apresentados na tabela 4.15.

Teor de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina

Tabela 4.15. – Teor de PCDD/Fs e PCBs nos efluentes gasosos provenientes de fontes fixas do setor de atividade da produção e transformação de metais.

^{a)} Limites Inferiores de Concentração (calculados considerando igual a zero, os valores dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, cuja concentração seja inferior ao limite de quantificação do método).

^{b)} Limites Superiores de Concentração (calculados considerando iguais ao limite de quantificação do método, os valores dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, cuja concentração seja inferior ao limite de quantificação do método).

^{c)} Nesta amostragem os valores de concentração obtidos para todos os congêneres de PCDD/Fs foram inferiores ao limite de quantificação do método.

UNIDADE INDUSTRIAL	CONCENTRAÇÃO (ng I-TEQ Nm ⁻³)				CONCENTRAÇÃO (ng Nm ⁻³)	TIPO DE PROCESSO Σ PCDD/Fs + PCBs (LIMITES SUPERIORES)
	LIMITES INFERIORES DE CONCENTRAÇÃO ^{a)}		LIMITES SUPERIORES DE CONCENTRAÇÃO ^{b)}			
	Σ PCDD/Fs	Σ PCBs	ΣPCDD/Fs	Σ PCBs	HEXACLOROBENZENO	
E1	0,33	0,070	0,33	0,070	340	SIDERURGIAS 0,40-0,53 ng I-TEQ/Nm ³
E2	0,45	0,081	0,45	0,081	127	
E3	0,025	0,0040	0,025	0,0040	<1,9 (LQ)	FUNDIÇÕES DE METAIS FERROSOS 0,028-0,029 ng I-TEQ/Nm ³
E4	0,0077	0,020	0,0083	0,020	2,4	
E5	0,94	0,019	0,94	0,019	<0,2 (LQ)	FUNDIÇÕES DE METAIS NÃO FERROSOS 0,0010-0,96 ng I-TEQ/Nm ³
E6	0,000058	0,00044	0,0057	0,00044	<0,3	
E7	0,16	0,014	0,16	0,014	<1,9 (LQ)	
E8	- ^{c)}	0,000041	0,00095	0,000081	<1,6 (LQ)	
E9	0,010	0,00011	0,013	0,00017	3,6	
E10	0,17	0,042	0,17	0,042	4,3	

Os resultados da tabela 4.15 mostram que o valor de emissão para a soma dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina (Limites Superiores de Concentração) compreende o

intervalo de 0,40-0,53 ng I-TEQ/Nm³ para as siderurgias (o que corresponde a uma média de 0,47 ng I-TEQ/Nm³, considerando as duas unidades). Relativamente às fundições de metais ferrosos, verifica-se que a emissão dos mesmos congéneres compreende o intervalo de 0,028-0,029 ng I-TEQ/Nm³ (o que corresponde a uma média de 0,028 ng I-TEQ/Nm³, considerando as duas unidades). E finalmente, para as fundições de metais não ferrosos, verifica-se uma emissão compreendida entre 0,0010-0,96 ng I-TEQ/Nm³ (o que corresponde a uma média de 0,23 ng I-TEQ/Nm³, considerando as seis unidades).

Salientam-se portanto dois aspetos relevantes. O primeiro consiste no facto, que o setor de atividade das fundições de metais ferrosos é o único que consegue cumprir, em todas as unidades monitorizadas, o valor limite de emissão de congéneres de PCDD/Fs, estabelecido pelo Decreto-Lei n.º 85/2005, de 28 de Abril (0,1 ng I-TEQ/Nm³) [11]. O segundo está relacionado com o valor médio de emissão obtido para as fundições de metais ferrosos (0,028 ng I-TEQ/Nm³). Verifica-se então, que este valor é inferior ao das fundições de metais não ferrosos (0,23 ng I-TEQ/Nm³), pelo que, é pertinente concluir que as fundições de metais não ferrosos, são em geral, mais poluentes que as de metais ferrosos. A conclusão anterior é corroborada por diversos trabalhos, nomeadamente os de Yu et al. (2006) e Li et al. (2007) [12,13]

Relativamente ao contributo para a toxicidade de cada amostra, conferida pelos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, apresenta-se a figura 4.16, na qual se pode verificar em termos de I-TEQ, qual é a fração correspondente a cada uma das famílias de poluentes.

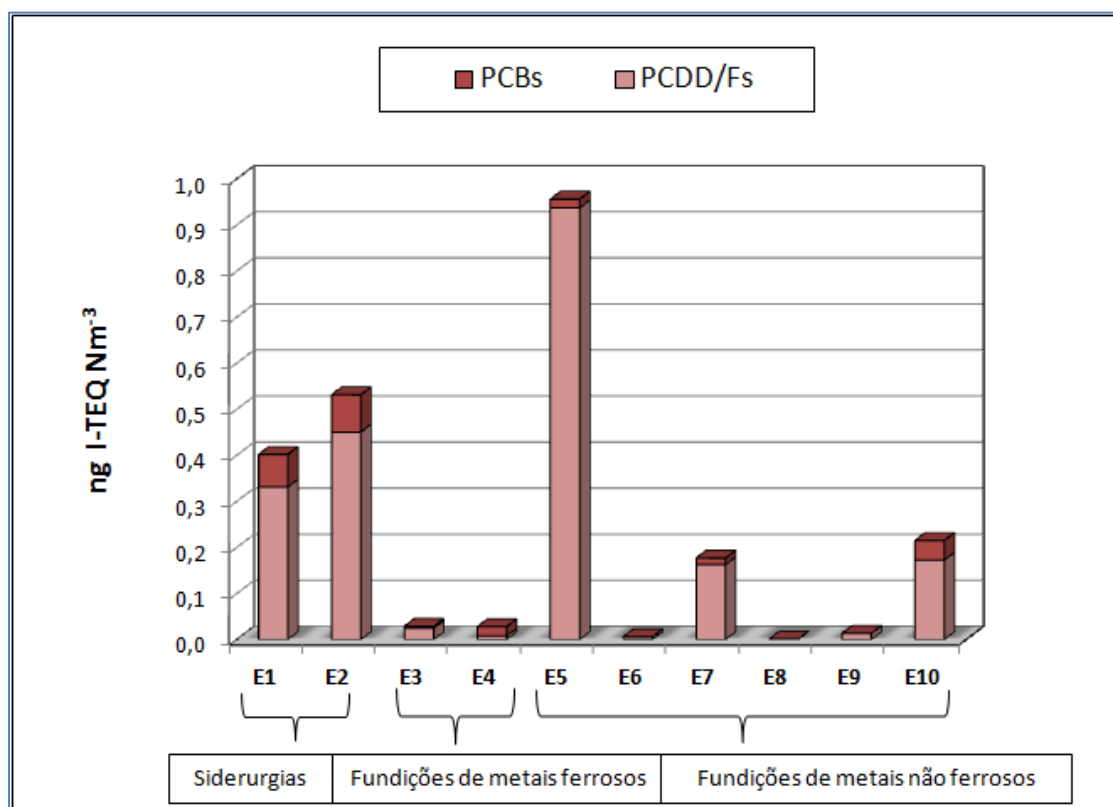


Figura 4.16. – Teor de PCDD/Fs e PCBs (em I-TEQ) nos efluentes gasosos provenientes de fontes fixas do setor de atividade da produção e transformação de metais.

Os valores apresentados na figura correspondem aos Limites Superiores de Concentração (calculados considerando iguais ao limite de quantificação do método, os valores dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, cuja concentração seja inferior ao limite de quantificação do método).

Perfis isoméricos de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina nas amostras de efluentes gasosos

Apresenta-se em seguida, nas figuras 4.17 e 4.18, os respectivos perfis isoméricos dos congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, obtidos na campanha de monitorização de efluentes gasosos.

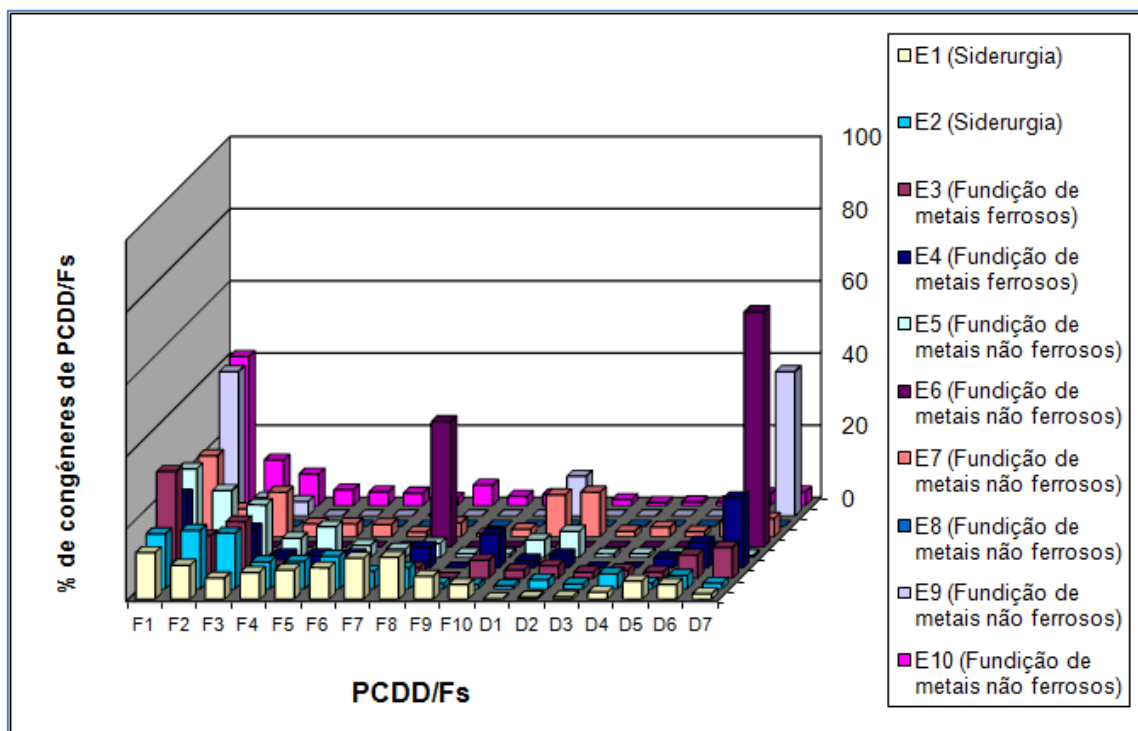


Figura 4.17. – Perfis isoméricos dos PCDD/Fs nos efluentes gasosos provenientes de fontes fixas do setor de atividade da produção e transformação de metais.

F1 – 2,3,7,8-TCDF, F2 – 1,2,3,7,8-PeCDF, F3 – 2,3,4,7,8-PeCDF, F4 – 1,2,3,4,7,8-HxCDF, F5 – 1,2,3,6,7,8-HxCDF, F6 – 2,3,4,6,7,8-HxCDF, F7 – 1,2,3,7,8,9-HxCDF, F8 – 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, F9 – 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF e F10 – OCDF, D1 – 2,3,7,8-TCDD, D2 – 1,2,3,7,8-PeCDD, D3 – 1,2,3,4,7,8-HxCDD, D4 – 1,2,3,6,7,8-HxCDD, D5 – 1,2,3,7,8,9-HxCDD, D6 – 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD e D7 – OCDD.

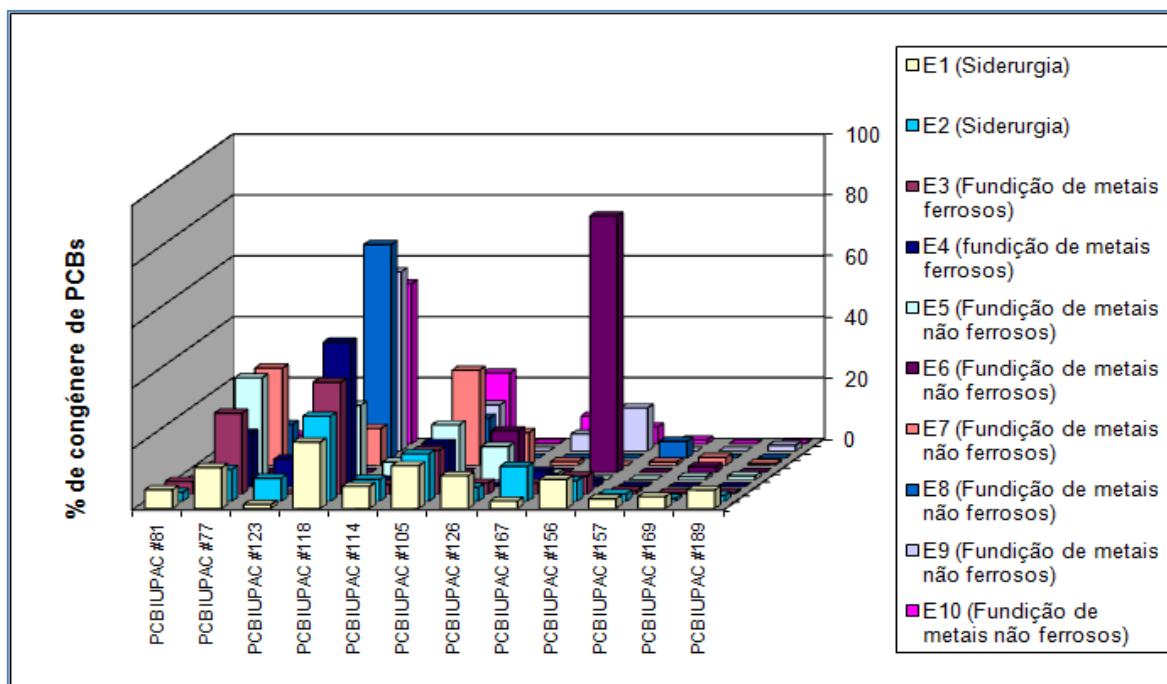


Figura 4.18. – Perfis isoméricos dos PCBs nos efluentes gasosos provenientes de fontes fixas do setor de atividade da produção e transformação de metais.

No que respeita aos perfis isoméricos dos PCDD/Fs apresentados na figura 4.17, verifica-se que existem padrões de emissão de característicos para algumas unidades monitorizadas (nomeadamente as siderurgias E1 e E2). Por outro lado constata-se também, que em geral, os congéneres de PCDFs estão presentes em maior grau que os de PCDDs nas amostras (razão PCDFs/PCDDs>1, típica dos processos térmicos ou de combustão) [14,15].

Relativamente aos PCBs com atividade de dioxina, a figura 4.18, mostra que os perfis isoméricos são bastante mais heterogéneos que os obtidos para os PCDD/Fs. Assim sendo, apenas é possível avaliar quais são os congéneres de PCBs que predominam na generalidade das amostras (respetivamente, o PCB IUPAC #77, o PCB IUPAC #118, o PCB IUPAC #105, o PCB IUPAC #126 e o PCB IUPAC #156).

Nas figuras 4.19 e 4.20, apresentam-se dois dos cromatogramas obtidos durante a análise de amostras de efluentes gasosos, respetivamente para a determinação de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina.

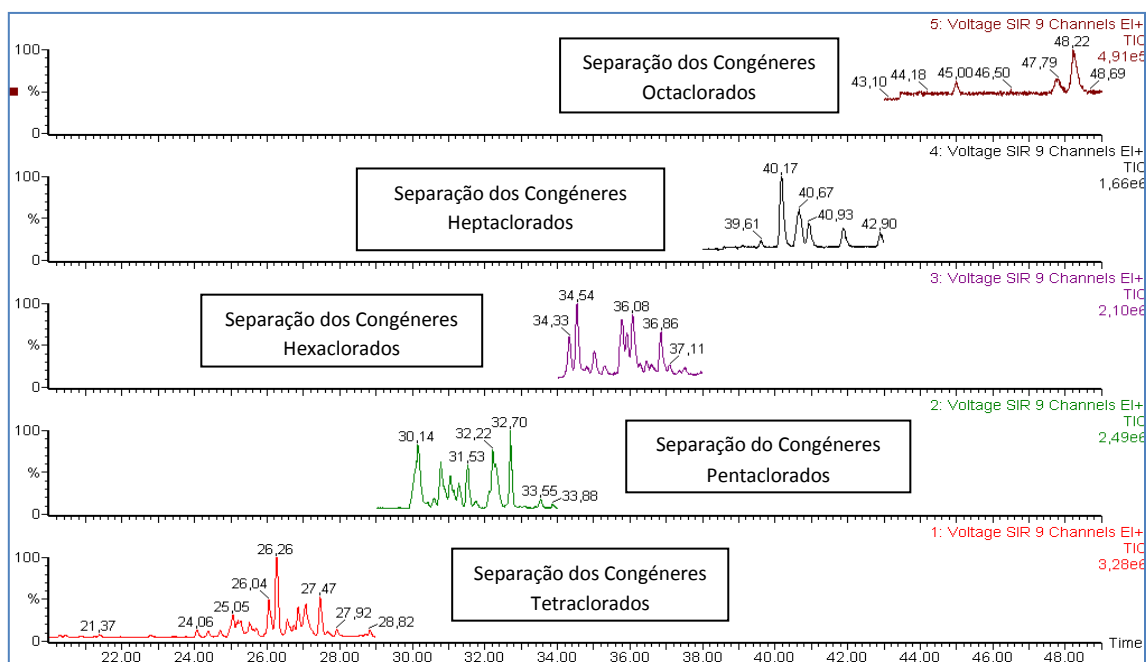


Figura 4.19. – Cromatograma obtido durante na análise de PCDD/Fs numa amostra de efluente gasoso.

Este cromatograma foi obtido num Cromatógrafo Gasoso (*Agilent 6890 Series*) acoplado a um Espectrómetro de Massa de Alta Resolução (*Micromass AutoSpec-Ultima*), tendo sido utilizada para a separação dos congêneres, uma coluna cromatográfica capilar VF-5MS da marca *Varian* (com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme).

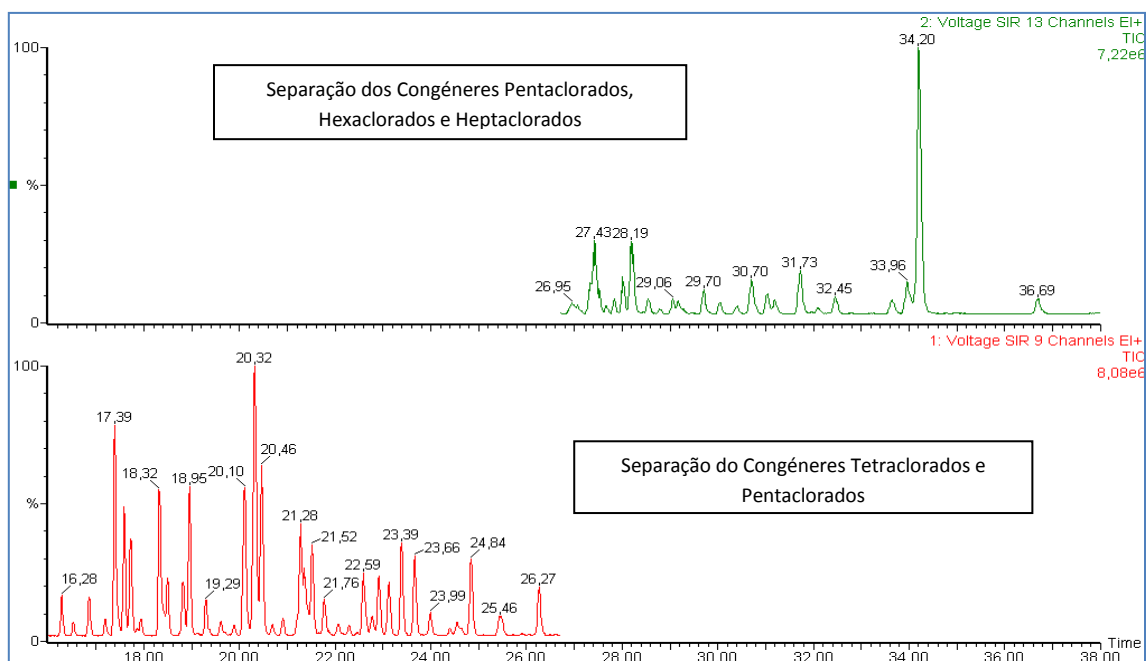


Figura 4.20. – Cromatograma obtido durante na análise de PCBs com atividade de dioxina numa amostra de efluente gasoso.

Este cromatograma foi obtido num Cromatógrafo Gasoso (*Agilent 6890 Series*) acoplado a um Espectrómetro de Massa de Alta Resolução (*Micromass AutoSpec-Ultima*), tendo sido utilizada para a separação dos congêneres, uma coluna cromatográfica capilar VF-5MS da marca *Varian* (com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme).

Teor de Hexaclorobenzeno

Para o Hexaclorobenzeno (HCB), os resultados obtidos durante a campanha de monitorização, são os que se apresentam na figura 4.21. Relativamente a esta figura salienta-se, que os valores apresentados correspondem aos Limites Superiores de Concentração (calculados considerando igual ao limite de quantificação do método, os valores de Hexaclorobenzeno, cuja concentração seja inferior ao limite de quantificação do método).

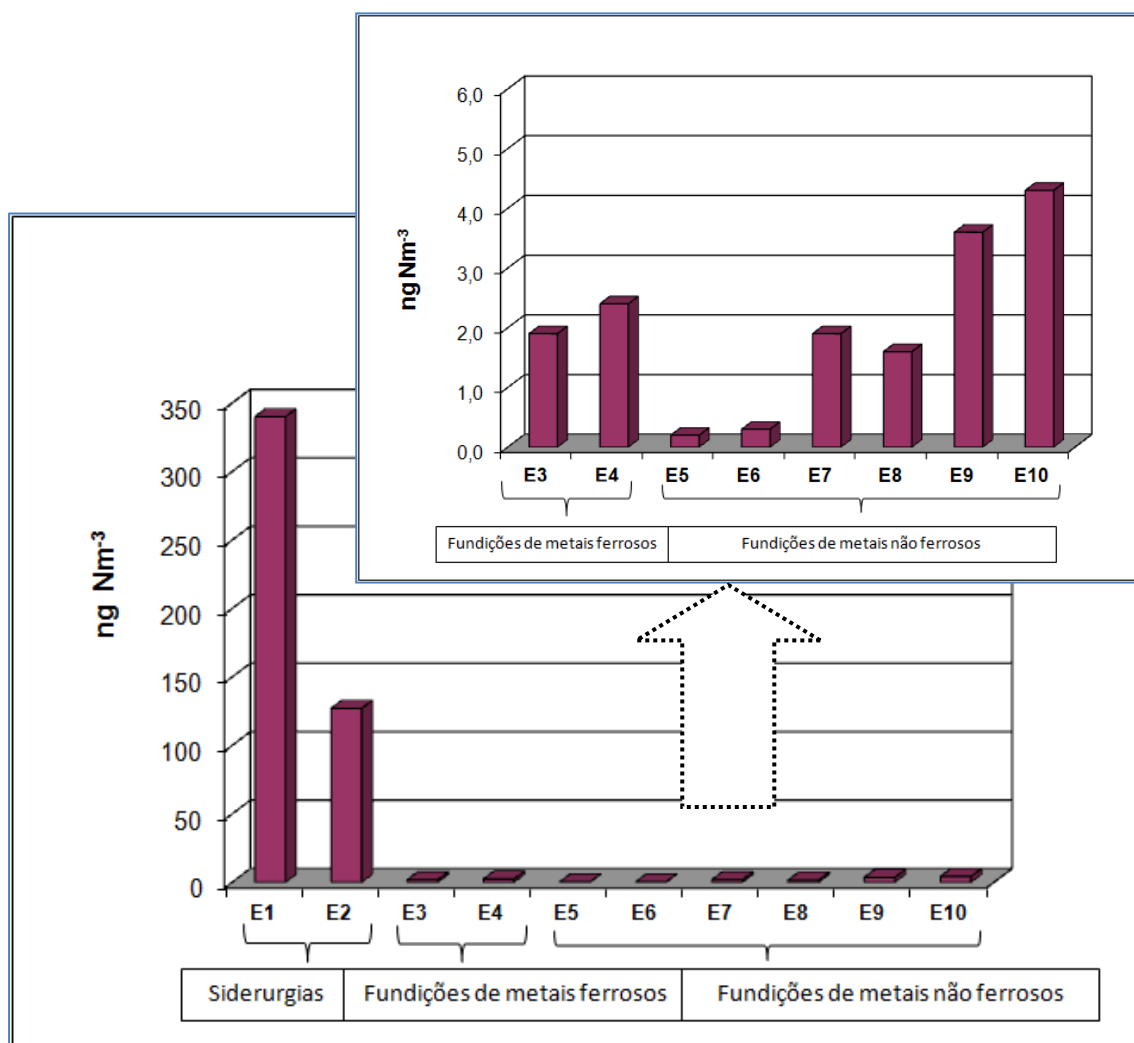


Figura 4.21. – Teor de Hexaclorobenzeno nos efluentes gasosos provenientes de fontes fixas do setor de atividade da produção e transformação de metais.

Relativamente ao Hexaclorobenzeno, verifica-se que a tendência obtida pelos resultados é semelhante à dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, sendo portanto as siderurgias as unidades industriais, onde a emissão destes poluentes é mais significativa. Salienta-se também, que um dos motivos pelo qual as emissões de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina são superiores nas siderurgias, por comparação com as das fundições de metais ferrosos e não ferrosos, está relacionado com a sua capacidade produtiva. Em geral, verifica-se que a capacidade produtiva e o período de funcionamento das siderurgias, são bastante superiores aos correspondentes fatores

nos outros setores de atividade, pelo que, é espectável que a emissão de poluentes para a atmosfera pelas primeiras unidades também seja mais significativa.

4.2.3.3. CÁLCULO DOS FATORES DE EMISSÃO

Relativamente ao cálculo dos fatores de emissão e à emissão anual dos congéneres de PCDD/Fs, PCBs com atividade de dioxina e hexaclorobenzeno, foram utilizadas as equações apresentadas na figura 4.22.

$\text{Fator de Emissão (ng I-TEQ/ton)} = \frac{\text{Concentração de Congénere (ng I-TEQ Nm}^{-3}) \times \text{Caudal (Nm}^3/\text{hora)}}{\text{Capacidade de produção de metal (ton/hora)}}$
$\text{Emissão Total (g I-TEQ/ano)} = \text{Fator de emissão (ng I-TEQ/ton)} \times \text{nível de ati. produtiva (ton/ano)}$

Figura 4.22. – Equações utilizadas para calcular o fator de emissão e a emissão total anual de PCDD/Fs, PCBs e Hexaclorobenzeno. [16]

Nesta equação o termo nível de ati. produtiva corresponde ao nível de atividade produtiva anual da unidade industrial.

Na tabela 4.16 apresentam-se os valores estimados para a emissão anual dos congéneres de PCDD/Fs, PCBs com atividade de dioxina e hexaclorobenzeno, bem como os respetivos fatores de emissão.

Tabela 4.16. – Fatores de emissão e emissão total anual de PCDD/Fs, PCBs e HCB (hexaclorobenzeno) em unidades industriais do setor de atividade da produção e transformação de metais.

a) E1 e E2 correspondem a siderurgias, E3 e E4 a fundições de metais ferrosos e E5, E6, E7, E8, E9 e E10, a fundições de metais não ferrosos

Unidade ^{a)} industrial	Processo de produção utilizado	Dispositivos de controlo de poluição instalados	Nível de atividade produtiva (ton/ano)	Fator de emissão Σ PCDD/Fs (ng I-TEQ/ton)	Fator de emissão Σ PCBs (ng I-TEQ/ton)	Emissão Total Σ PCDD/Fs (g I-TEQ/ano)	Emissão Total Σ PCBs (g I-TEQ/ano)	Soma Σ(PCDD/Fs + PCBs) (g I-TEQ/ano)	Fator de emissão HCB (mg/ton)	Emissão Total HCB (mg/ano)
E1	Produção de aço em Forno de Arco Elétrico (FAE) com fusão secundária em forno de panela (afinação)	Sistema de despoeiramento equipado com um ciclone, câmaras de pós-combustão/sedimentação (torre de <i>quenching</i>) e filtro de mangas	1200000	3098	659	3,7	0,79	4,5	3,2	3807
E2			1000000	3338	597	3,3	0,60	3,9	0,94	939
E3	Fusão de ferro em forno de <i>Cubilot</i>	Sistema de despoeiramento equipado com um ciclone, câmaras de pós-combustão/sedimentação (torre de <i>quenching</i>) e filtro de mangas	9200	152	24	0,0014	0,00022	0,0016	0,012	0,11
E4	Fusão de ferro em forno de <i>Cubilot</i> /Indução	Sistema de despoeiramento equipado com um ciclone, eletrofiltro e filtro de mangas	6000	50	121	0,00030	0,00072	0,0010	0,015	0,090
E5	Fusão de Alumínio em forno de revérbero/panelas	Nenhum	20000	5715	113	0,11	0,0023	0,12	0,0012	0,024
E6	Fusão de chumbo em cadinho	Nenhum	7000	35	2,7	0,00024	0,000019	0,00026	0,0018	0,013
E7	Fusão de Alumínio forno de indução	Nenhum	10000	992	87	0,0099	0,00087	0,011	0,012	0,12
E8	Fusão de Cobre/Zinco/Chumbo em forno de indução	Sistema de despoeiramento equipado com cicone e filtro de mangas	22000	5,8	0,49	0,00013	0,000011	0,00014	0,010	0,21
E9	Fusão de Chumbo/Zinco/Estanho em forno de indução/cadinho	Sistema de despoeiramento equipado com cicone e filtro de mangas	80000	81	1,0	0,0065	0,000083	0,0065	0,022	1,7
E10	Fusão de Alumínio em forno de revérbero	Nenhum	13000	1053	259	0,014	0,0034	0,017	0,026	0,34

A análise da tabela 4.16 mostra que o setor de atividade da produção de metais (siderurgias e fundições) constitui atualmente, um dos que mais contribui para a produção de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Este facto não é surpreendente, pois tal como abordado no capítulo 2 deste documento, verifica-se que os processos térmicos são por natureza geradores destas substâncias, e acresce também, que os metais agem como catalisadores nas suas reações de formação. Todavia, o reconhecimento de que a atividade da produção de metais é uma das principais fontes de produção de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, apenas recentemente ficou definitivamente esclarecida, e mesmo assim, ainda existem alguns países, onde se desconhece o impacto dessa atividade. O guia da UNEP *Toolkit*, denominado por *Standardized Toolkit for Identification and Quantification of Dioxin and Furan Releases* (versão de 2005), tem como objetivo ajudar os países a criarem os seus inventários nacionais sobre a emissão de PCDD/Fs, e numa fase posterior, refinar os dados desses inventários em conformidade com a evolução tecnológica dos processos industriais, bem como com os novos resultados de caracterizações que forem efetuadas [16]. No referido guia, são descritas as 10 categorias principais que constituem importantes fontes de produção/emissão de PCDD/Fs para o ambiente (ar, água, solo e etc). Salienta-se também, que o guia é bastante lato, abrangendo diversas atividades industriais, tais como, a produção de metais, a produção de energia, a incineração de resíduos, a produção de químicos, entre outros. No guia cada categoria principal de atividade está dividida em subcategorias, para as quais, foi estimado um fator de emissão específico para a soma dos congêneres de PCDD/Fs. Por exemplo, para o setor de atividade da produção de ferro e aço, tendo como matéria-prima a sucata, o fator de emissão de PCDD/Fs para a atmosfera referenciado corresponde a 10 µg I-TEQ/tonelada de metal líquido produzido.

Tal como é sabido, a atividade industrial da produção de metais (mais concretamente, a desenvolvida nas siderurgias e fundições) constitui um processo de intenso consumo de energia/matéria-prima. Nestas circunstâncias, consideráveis quantidades de *inputs* são introduzidas nos processos, obtendo-se no final, a produção de elevados níveis de *outputs* sob a forma de gases e resíduos (e como é evidente de produtos fabricados). Assim, a produção de externalidades ambientais, em particular a libertação de poluentes para a atmosfera, é uma consequência dos diversos fatores que decorrem do processo produtivo, tais como, a reciclagem de resíduos (por exemplo, utilização de sucata como matéria-prima), a existência de sistemas de tratamento de efluentes gasosos de fim de linha (filtros, ciclones e outros), o tipo de processo utilizado e etc.

Verifica-se portanto, que a produção de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em processos térmicos resulta de dois mecanismos principais. Contudo, sabe-se hoje, que produção via o mecanismo de síntese *de novo* é responsável por cerca de 70% do total de PCDD/Fs emitidos (Lanier et al. (1990) e Altwicker (1991) [17]. Assim, a combustão incompleta de sucatas, materiais orgânicos e outras fontes de carbono, na presença de cloro ou agentes clorados, e à temperatura de 250 a 450°C, resulta na formação de congêneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Reconhece-se também, que os referidos processos, são fortemente catalisados por metais, tais como, o ferro, o cobre, o alumínio ou outros. Deste modo, é expectável que a atividade de produção de metais via processos de combustão seja potencialmente geradora de elevadas quantidades destes poluentes.

Siderurgias

As duas siderurgias monitorizadas (unidades E1 e E2), tal como mostra a tabela 4.16, utilizam o mesmo processo produtivo, ou seja, um forno de arco elétrico (*EAF - Electric arc furnaces*), no qual, se efetua a fusão da matéria-prima, e posteriormente numa etapa subsequente, efetua-se a afinação do aço num forno de panela (fusão secundária). Normalmente, a capacidade de um forno de arco elétrico, varia entre as 60 a 80 toneladas por carga e o tempo de *tap to tap* oscila entre os 35 a 120 minutos. Em geral, o processo desenvolve-se com a fusão da carga à temperatura de 1600-1670°C, sendo que os efluentes gasosos gerados neste processo, são encaminhados para condutas e libertados para a atmosfera através de fontes fixas.

Relativamente ao fatores de emissão dos PCDD/Fs determinados para as siderurgias, verifica-se que eles compreendem o intervalo entre 3,098 e 3,338 µg I-TEQ/ton de aço produzido (tabela 4.16). Estes valores estão em conformidade com aqueles que são reportados na literatura científica para este tipo de processo, nomeadamente no guia UNEP *Toolkit*, 2005 (0,1-10 µg I-TEQ/ton aço líquido para os PCDD/Fs) e Wang et al., 2009 (1,33-7,61 µg I-TEQ/ton aço para os PCDD/Fs) [16,18]. Finalmente, para os congêneres de PCBs com atividade de dioxina, os fatores de emissão determinados, abrangem o intervalo entre 0,597-0,659 µg I-TEQ/ton aço líquido.

Relativamente ao hexaclorobenzeno, os valores obtidos para o fator de emissão abrangem o intervalo de 0,94-3,2 mg/ton, o que corresponde a uma emissão total que oscila entre 939-3807 mg de HCB/ano (tabela 4.16).

Fundições de metais ferrosos

Relativamente a estas unidades industriais (E3 e E4), no estudo foram monitorizadas duas empresas, que desenvolvem o seu processo produtivo através do uso de fornos de cubilot ou indução (tabela 4.16). Os resultados obtidos mostram, que os fatores de emissão para os congêneres de PCDD/Fs, abrangem o intervalo de 0,050-0,152 µg I-TEQ/ton de metal produzido (tabela 4.16). No que respeita aos PCBs com atividade de dioxina, os correspondentes fatores, compreendem o intervalo de 0,024-0,121 µg I-TEQ/ton de metal produzido. Estes resultados são corroborados pela literatura científica, uma vez, que são semelhantes aos reportados por Yu et al., 2006 (0,1095-0,1936 µg I-TEQ/ton para os PCDD/Fs e 0,0109-0,0334 µg I-TEQ/ton para os PCBs com atividade de dioxina) e pelo guia UNEP *Toolkit*, 2005 (0,03-10 µg I-TEQ/ton para os PCDD/Fs para a categoria das fundições ferrosas) [12,16]. Verifica-se assim, que a atividade de produção de metais pelas fundições ferrosas, exhibe fatores de emissão menores que os obtidos pelas siderurgias.

Este facto é explicado por duas razões, em primeiro lugar, porque o nível de atividade anual das fundições de metais ferrosos é bastante inferior ao das siderurgias, e em segundo lugar, porque se constatou que as fundições que participaram no estudo, utilizavam como matéria-prima sucata limpa e retornos, enquanto que as siderurgia usavam sucata normal.

Relativamente ao hexaclorobenzeno, os valores obtidos para o fator de emissão abrangem o intervalo de 0,012-0,015 mg/ton de metal, o que corresponde a uma emissão total que varia entre 0,090-0,11 mg de HCB/ano (tabela 4.16).

Fundições de metais não ferrosos

No que diz respeito às fundições de metais não ferrosos (unidades E5, E6, E7, E8, E9 e E10), o estudo compreendeu três tipos distintos de unidades, a saber; fundições de produção de alumínio, de chumbo e ligas de metais (chumbo, zinco, cobre e estanho).

As unidades de fundição de metais ferrosos, normalmente utilizam diversos tipos de fornos para a fusão da matéria-prima (por exemplo, fornos de indução, de revérbero, de cadinho, de soleira e etc).

Relativamente ao alumínio, existem dois processos distintos para a sua produção, sendo que estes dependem sobretudo do tipo de matéria-prima utilizadas. Assim, se a produção for efetuada tendo como ponto de partida a bauxite, o processo denomina-se por produção primária. Por outro lado, se a produção for efetuada a partir da reciclagem de sucatas de alumínio ou desperdícios, o processo denomina-se por produção secundária. Neste estudo, as três unidades industriais monitorizadas (E5, E7 e E10) efetuavam a produção secundária do alumínio, utilizando para o efeito como sua matéria-prima, lingotes, sucatas, desperdícios e retornos desse metal (tabela 4.16). Os fatores de emissão determinados, abrangem o intervalo entre 0,992-5,715 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ de metal produzido para os PCDD/Fs e 0,087-0,259 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ de metal produzido para os PCBs com atividade de dioxina (tabela 5.7). Estes valores são concordantes com os da literatura científica, designadamente os reportados por Wang et al., 2009 (0,0848-2,72 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ para os PCDD/Fs), Li et al., 2007 (1,63-12,9 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ para os PCDD/Fs) e o guia UNEP *Toolkit*, 2005 (3,5-100 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ para os PCDD/Fs) [13,16,18].

Tal como no caso do alumínio, existem duas vias principais para a obtenção do chumbo, nomeadamente o uso de sulfuretos de chumbo, tal como a galena³⁷ (produção primária), ou o uso de sucatas/desperdícios como por exemplo a utilização de baterias de automóveis (produção secundária). No estudo, a única unidade industrial de produção de chumbo monitorizada (E6), efetuava a produção secundária de chumbo, utilizando para o efeito como matéria-prima os lingotes. Os fatores de emissão determinados, correspondem a 0,035 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ de metal produzido para os PCDD/Fs e 0,0027 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ de metal produzido para os PCBs com atividade de dioxina (tabela 4.16). Os valores reportados na literatura científica são um pouco superiores, designadamente Yu et al., 2006 (3,140 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ para os PCDD/Fs e 0,31 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ para os PCBs com atividade de dioxina) e o guia UNEP *Toolkit*, 2005 (0,5-80 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ para os PCDD/Fs) [12,16].

Finalmente, as restantes unidades de fundição de metais não ferrosos participantes no estudo (E8 e E9), dedicam-se à produção de ligas metálicas (chumbo/zinco/cobre/estanho). Os fatores de emissão determinados compreendem o intervalo 0,0058-0,081 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ de metal produzido para os PCDD/Fs e 0,00049-0,0010 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ de metal produzido para os PCBs com atividade de dioxina (tabela 4.16). Estes resultados são significativamente inferiores aos encontrados na literatura científica, designadamente no guia UNEP *Toolkit*, 2005 (2,5-10 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ para a produção de latão³⁸) [16].

³⁷ Designa-se por galena o mineral constituído por sulfureto de chumbo (PbS).

³⁸ Designa-se por latão as ligas metálicas constituídas pelos metais cobre e zinco. Dependendo do tipo de latão, é normal adicionar pequenas quantidades de outros elementos, tais como, o alumínio, o estanho, o chumbo e o arsênio para potencializar algumas das características da liga.

Relativamente ao hexaclorobenzeno, os valores obtidos para os fatores de emissão nas unidades de metais não ferrosos, abrangem o intervalo de 0,0012-0,026 mg/ton de metal, o que corresponde a uma emissão total que varia entre 0,013-1,7 mg de HCB/ano (tabela 4.16). Relativamente ao valor determinado, a literatura científica recomenda um valor de emissão de HCB para a produção secundária de alumínio de 5 µg/ton de metal produzido (CORINAIR Guidebook, 2009) [19]. Verifica-se assim, que o limite superior do intervalo do fator de emissão de HCB, nas três unidades que efetuam a produção secundária de alumínio (respetivamente, a E5, a E7 e a E10), excede um pouco a recomendação da citada referência bibliográfica.

Bibliografia

- [1] União europeia (2002). Decisão da Comissão de 12 de Agosto de 2002 que dá execução ao disposto na Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:221:0008:0036:PT:PDF>, acedido em Outubro de 2011;
- [2] Bocio A, Domingo J., Falcó G., Llobet J. (2007). Concentrations of PCDD/PCDFs and PCBs in fish and seafood from the Catalan (Spain) market: Estimated human intake. *Environment International*, 33, 170–175;
- [3] Hashimoto S., Horiguchi T., Shibata Y., Morita M. (1999). Polychloro dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in invertebrate animals from a rural beach in Japan. *Chemosphere*, 39, 2661–2669;
- [4] Leeuwen S., Leonards P., Traag W., Hoogenboom L., Boer J. (2007). Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and biphenyls in fish from the Netherlands: concentrations, profiles and comparison with DR CALUX® bioassay results. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 321–333;
- [5] Regulamento (CE) N.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de Dezembro, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:PT:PDF>, acedido em Dezembro de 2011;
- [6] Pastor D., Ruiz X., Barceló D., Albaigés J. (1995). Dioxins, furans and AHH-Active PCB congeners in eggs of tow gull species from the western mediterranean. *Chemosphere*, 31, 3397-3411;
- [7] Decreto-Lei n.º 173/2008, de 26 de Agosto, que estabelece o regime de prevenção e controlo integrados da poluição. <http://dre.pt/pdf1sdip/2008/08/16400/0596705980.pdf>, acedido e, Janeiro de 2012;
- [8] Regulamento (CE) n.º 166/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 18 de Janeiro, relativo à criação do Registo Europeu das Emissões e Transferências de Poluentes (PRTR) e que altera as Directivas 91/689/CEE e 96/61/CE do Conselho. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:033:0001:0017:PT:PDF>, acedido em Janeiro de 2012;
- [9] Caracterização da área Metropolitana de Lisboa (2008). ODSAML – Observatório de Desenvolvimento Económico e Social. <http://www.aml.pt>, acedido em Setembro de 2011;
- [10] Sistema de indicadores Abril 2007 nova grande área metropolitana do porto (2007). <http://www.amp.pt/>, acedido em Setembro de 2011;
- [11] Decreto-Lei n.º 85/2005, de 28 de Abril, estabelece o regime a que fica sujeita a incineração e a co-incineração de resíduos. <http://dre.pt/pdf1s/2005/04/082A00/32143235.pdf>, acedido em Janeiro de 2012;

- [12] Yu B-W., Jin G-Z., Moon Y-H., Kim M-K., Kyoung J-D., Chang Y-S. (2006). Emission of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs from metallurgy industries in S. Korea. *Chemosphere*, 62, 494-501;
- [13] Li H-W., Lee W-J., Huang K-L., Chang-Chien G-P. (2007). Effect of raw materials on emissions of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans from the stack gases of secondary aluminum smelters. *Journal of Hazardous Materials*, 147, 776-784;
- [14] Ba T., Zheng M. Zhang B., Liu W., Xiao K., Zhang L. (2009). Estimation and characterization of PCDD/Fs and dioxina-like PCBs from secondary copper and aluminum metallurgies in China. *Chemosphere*, 75, 1173-1178;
- [15] Stieglitz L., Vogg H. (1987). On Formation Conditions of PCDD/PCDF in Fly Ash from Municipal Waste Incinerators. *Chemosphere*, 16, 1917-1922
- [16] United Nations Environment Programme. (2005). Standardized Toolkit for Identification and Quantification of Dioxin and Furan Release. http://www.chem.unep.ch/pops/pcdd_activities/toolkit/Toolkit%202-1%20version/Toolkit-2005_2-1_en.pdf, acedido em Fevereiro de 2012;
- [17] Nganai S., Lomniki S., Dellinger B. (2012). Formation of PCDD/Fs from oxidation of 2-monochlorophenol over Fe₂O₃/silica surface. *Chemosphere*, 88, 371-376;
- [18] Wang J., Hung C-H., Hung C-H., Chang-Chien G-P. (2009). Polychlorinated dibenzo-p-dioxin and dibenzofuran emissions from an industrial park clustered with metallurgical industries. *Journal of Hazardous Materials*, 161, 800-807;
- [19] Air Pollutant Emission Inventory Guidebook — 2009 EMEP/EEA (EMEP CORINAIR) air pollutant emission inventory guidebook — 2009; <http://www.eea.europa.eu/publications/emep-eea-emission-inventory-guidebook-2009>, acedido em Abril de 2012;

CONCLUSÕES E PERSPETIVAS

Após a descrição efetuada nos capítulos anteriores, sobre a validação dos métodos de análise e as campanhas de monitorização ambiental, irá proceder-se agora ao comentário sobre as principais conclusões que se podem extrair dos resultados.

No que concerne à validação dos métodos desenvolvidos durante o âmbito desta Tese Doutoral, verifica-se que para as amostras sólidas, as técnicas testadas (designadamente, o Soxhlet, o ASE/PLE, o Vórtex e o banho ou sonda de ultra-sons), constituem boas opções para extrair os congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Particularmente verifica-se, que as técnicas de extração por ASE/PLE, Vórtex e banho ou sonda de ultra-sons, possuem uma vantagem significativa quando comparadas com a de extração por Soxhlet, isto é, requerem um menor consumo de tempo e solventes orgânicos. Este facto é por si só é relevante, dado que atualmente no âmbito da preparação de amostra, a ênfase situa-se na implementação de métodos de análise expeditos e ambientalmente mais verdes. Por outro lado, a técnica de extração por ASE/PLE possui uma importante desvantagem, ou seja, a sua capacidade extrativa é de tal forma elevada, que conjuntamente com os analitos de interesse são também extraídos um elevado número de interferentes (o que origina problemas acrescidos na subsequente etapa de limpeza).

Verifica-se ainda que para as amostras sólidas, ao contrário do que sucedeu com a extração dos congéneres de PCDD/Fs pelas técnicas de Vórtex e banho ou sonda de ultra-sons, a extração dos PCBs com atividade de dioxina foi bastante menos favorável, ou seja, enquanto que para os PCDD/Fs foi possível obter elevadas eficiências com tempos de extração da ordem dos 30 segundos, para os PCBs foi necessário utilizar cerca de 12 a 15 minutos de extração para se alcançarem níveis similares de eficiência.

Relativamente à implementação e validação do método de análise para os PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina em amostras de efluentes gasosos, segundo a Norma Portuguesa EN1948, constatou-se que a metodologia desenvolvida foi eficaz, dado que foi capaz de lidar com uma diversidade de amostras de efluentes provenientes de diferentes unidades industriais.

Abordando seguidamente as campanhas de monitorização ambiental desenvolvidas no âmbito desta Tese Doutoral, verifica-se que os resultados obtidos permitiram aferir pela primeira vez, os níveis destes contaminantes nos sistemas ambientais estudados. As campanhas de monitorização efetuadas possibilitaram portanto, a obtenção de informação relevante sobre os níveis de concentração de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina nos ecossistemas marinhos localizados ao longo da costa Portuguesa. No contexto das monitorizações costeiras realizadas, foram analisados indicadores biológicos (mexilhão da espécie *Mytillus galloprovincialis* e ovos de gaivota da espécie *Larus michaellis*). Os bivalves, em particular os mexilhões selvagens, são frequentemente usados como organismos de vigilância nos programas de monitorização ambiental, uma vez, que são fáceis de encontrar, tolerantes a condições ambientais adversas e, dado que são animais filtradores, acumulam grande parte dos poluentes ambientais nos seus tecidos. Tal como os mexilhões, a análise química aos ovos de gaivota é uma estratégia que vem sendo utilizada há já algum tempo para avaliar a presença de POPs nas zonas costeiras.

Os níveis de contaminação de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina detetados são considerados baixos ou vestigiais, estando dentro da ordem de grandeza dos valores reportados na literatura internacional. Nas campanhas de monitorização realizadas, durante os anos de 2008 e 2009, as amostras de mexilhão analisadas apresentaram, para a soma dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxinas, teores que oscilam 0,010 ng OMS-TEQ/kg de peso fresco (Zambujeira do Mar – Odemira, 1.^a Campanha de 2008, Limites Superiores de Concentração) e 2,5 ng OMS-TEQ/kg de peso fresco (Praia da Luz – Lagos, 2.^a Campanha de 2008, Limites Superiores de Concentração).

Relativamente aos resultados obtidos nos ovos de gaivota os valores mostraram também que os níveis de concentração dos congéneres de PCDD/Fs detetados são da ordem de grandeza dos reportados pela literatura científica internacional. Nas campanhas de monitorização realizadas, durante os anos de 2008 e 2009, os valores encontrados para a soma dos congéneres de PCDD/Fs foram 3,9 e 3,1 ng OMS-TEQ/kg de peso seco, respetivamente (Limites Superiores de Concentração). Constata-se também pela análise dos resultados, a presença do congénere 2,3,7,8-TCDD (com uma concentração de 0,20 ng OMS-TEQ/kg de peso fresco na campanha de 2008 e 0,16 ng OMS-TEQ/kg de peso fresco na campanha de 2009). Este facto é relevante, pois tal como já foi enunciado, este é o congénere mais tóxico de ambas as famílias de PCDDs e PCDFs.

Na outra vertente das campanhas de monitorização efetuadas, isto é, a relativa à caracterização de efluentes gasosos provenientes das emissões de unidades industriais do setor de atividade da produção de metais, os resultados obtidos demonstraram, que um dos aspetos mais relevantes para a limitação da emissão dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, consiste na adoção e utilização dos sistemas de fim de linha para o tratamento dos efluentes gasosos produzidos. Os resultados da tabela 4.16 do Capítulo anterior permitem verificar, que unidades industriais com um nível de atividade produtiva anual semelhante podem obter os níveis de emissão total de congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina bastante diferentes, estando a emissão destes poluentes dependentes dos sistemas de fim de linha para o de tratamento dos efluentes gasosos dessas unidades. Assim, considerando duas das fundições de metais não ferrosos (por exemplo, as unidades E5 e E8 da tabela 4.16, cujos níveis de atividade são 20000 e 22000 toneladas de metal/ano, respetivamente), verifica-se que o nível de emissão total para a unidade E5 correspondem a 0,12 g I-TEQ/ano (somatório dos PCDD/Fs e PCBs), enquanto que o da unidade E8 é de apenas 0,00014 g I-TEQ/ano (somatório dos PCDD/Fs e PCBs).

Deste modo, não obstante o tipo de metal produzido ser diferente nas duas unidades, verifica-se que a unidade E5, que não possui qualquer sistema de tratamento gases, emite cerca de 850 vezes mais quantidade destes poluentes que a unidade E8, que possui tratamento instalado (sistema de despoeiramento equipado com cicone e filtro de mangas). Adicionalmente, e tal como abordado no Capítulo – Introdução, verifica-se que o metal que melhor catalisa a formação de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina é o cobre, precisamente um dos que é utilizado na unidade E8. Conclui-se portanto que alguns fatores, tais como o uso de sistemas de tratamento de gases, bem como a implementação de boas práticas de trabalho, constituem aspetos muito importantes para minimizar a emissão de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. Destacam-se sobretudo as boas práticas de trabalho, uma vez que em geral, estas não consomem recursos financeiros significativos e acautelam exageradas emissões de poluentes. Neste sentido salienta-se que durante a amostragem efetuada na unidade E5, foi verificada a introdução de plástico no forno de fusão juntamente com a matéria-prima do processo.

No que respeita ao tipo de metal produzido nas unidades industriais, verifica-se que este é também um fator relevante na emissão total de PCDD/Fs ou PCBs com atividade de dioxina, pelo que, que deve ser tomado em consideração no planeamento das unidades. Os resultados da tabela 4.16 mostram, que para as unidades industriais E6, E7 e E10 (todas pertencente ao grupo das fundições de metais não ferrosos, sem sistemas de tratamento de efluentes gasosos e com um nível de atividade anual próximo de 10000 tonelada de metal/ano, respetivamente 7000, 10000 e 13000), as atividades desenvolvidas em E7 e E10 são as que conduzem a um maior nível na emissão destes poluentes. Tal facto pode ser justificado pelo tipo de metal produzido nas referidas unidades, ou seja, enquanto que E7 e E10 desenvolvem a atividade de produção de alumínio a unidade E6 dedica-se à produção de chumbo (tal afirmação é ainda corroborada pelos valores dos fatores de emissão referenciados no guia UNEP *Toolkit*, 2005, que atribui respetivamente 100 µg I-TEQ/ton de metal para a produção de alumínio e 80 µg I-TEQ/ton de metal para a produção de chumbo).

Finalmente, e ainda no que respeita à campanha de monitorização efetuada junto das unidades industriais do setor de atividade da produção e transformação de metais, verifica-se que as siderurgias são as unidades que obtêm os maiores fatores de emissão (3098-3338 ng I-TEQ/ton de metal produzido para os PCDD/Fs, 597-659 ng I-TEQ/ton de metal produzido para os PCBs com atividade de dioxina e 0,94-3,2 mg/ton de metal produzido para o HCB), seguidas das fundições de metais não ferrosos (5,8-5715 ng I-TEQ/ton de metal produzido para os PCDD/Fs, 0,49-259 ng I-TEQ/ton de metal produzido para os PCBs com atividade de dioxina e 0,0012-0,026 mg/ton de metal produzido para o HCB). Em último lugar estão as fundições de metais ferrosos, cujos fatores de emissão correspondem aos intervalos 50-152 ng I-TEQ/ton de metal produzido para os PCDD/Fs, 24-121 ng I-TEQ/ton de metal produzido para os PCBs com atividade de dioxina e 0,012-0,015 mg/ton de metal produzido para o HCB. Relativamente aos perfis isoméricos obtidos para as amostras de efluentes gasosos, verifica-se que estes estão de acordo com os modelos propostos para a emissão destes poluentes em processos térmicos, uma vez, que a razão PCDFs/PCDDs>1.

Relativamente às perspetivas futuras, verifica-se que os poluentes estudados (os congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina) continuam a constituir uma classe de compostos com interesse relevante, no que respeita ao ambiente e à saúde humana. Neste sentido, convém compreender, que embora possam ser tomadas medidas que minimizem a sua produção e, consequentemente a sua ação, a eliminação total destas substâncias ainda permanece uma tarefa impossível, dado que elas provêm de processos industriais largamente disseminados. Por este motivo, torna-se imperativo o estabelecimento de medidas de regulação, tais como, a imposição de valores limites de emissão para as fontes mais significativas, bem com outras medidas legislativas cujo objetivo final permita prevenir e limitar os seus efeitos no ambiente e na saúde humana.

Por outro lado, é necessário empreender mais estudos acerca dos mecanismos de atuação dos PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina e outros programas de monitorização, sobretudo em setores de atividade onde a informação ainda é escassa, por forma que seja possível esclarecer cabalmente o modo atuação/metabolização, os seus níveis de concentração e as tendências de evolução temporal nos diferentes sistemas ambientais.

Recomenda-se ainda, que para além da monitorização dos PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, sejam também incluídos outros poluentes químicos nesses programas de monitorização. Uma boa base de partida para a escolha desses novos poluentes consiste na análise das decisões emanadas pela Convenção de Estocolmo. A Convenção fornece um enquadramento, baseado no princípio da

precaução, para a eliminação da produção, utilização, importação e exportação dos doze POPs prioritários, o seu manuseamento em segurança, a deposição permanente e a eliminação ou redução das libertações não intencionais no ambiente. A Convenção define também de forma inequívoca, as regras de inclusão de novos químicos aos seus anexos. Estas regras têm por base alguns fatores relevantes, tais como, o grau de preocupação ambiental, a persistência e outros. Na reunião de Conferência das Partes, que foi realizada entre 4 e 8 de Maio do ano de 2009, ficou decidido adicionar outras nove classes de POPs à lista inicial, nomeadamente a Clordecona, os isómeros alfa, beta e gama do pesticida Hexaclorociclohexano, o Pentaclorobenzeno, o Hexabromobifenilo, os Éteres difenílicos tetra, penta, hexa e hepta Bromados, o Perfluorooctano Sulfonato (PFOS), os seus sais e o Fluoreto Perfluorooctano Sulfonilo (PFOSF). Assim, torna-se pertinente considerar a inclusão destes químicos nos programas de monitorização a desenvolver no futuro.

Finalmente, importa também analisar a situação dos designados compostos orgânicos emergentes (ou Poluentes Emergentes). Esta classe de poluentes, que engloba várias famílias de químicos, deve também ser alvo de atenção. Neste contexto, substâncias tais como, os compostos perfluorados (PFC), os éteres difenílicos polibromados, as parafinas cloradas de cadeia curta (C10-C13), as polibromodibenzo-*p*-dioxinas (PBDDs) e os polibromodibenzofuranos (PBDFs), os naftalenos policlorados, os biocidas, os antibióticos, os plastificantes, os detergentes, os ftalatos e outros, são atualmente, alguns dos compostos químicos que representam o maior desafio. Sobretudo, em virtude da sua produção estar intimamente ligada ao mundo industrializado, ou seja, pelo facto de possuírem inúmeras aplicações industriais em diversas áreas (tais como, em fármacos, fragâncias, retardantes de chama, fluidos hidráulicos, preservantes de madeira, aditivos de tintas e óleos, tratamento de têxteis e metais, surfactantes, espumas para combate de incêndios, aplicações na indústria fotográfica e de semicondutores, entre outras). Deste modo, alguns estudos recentes mostram, que o incremento na produção dos poluentes emergentes, aliado à consequente libertação para o ambiente, têm conduzido ao aumento dos seus níveis nos diversos sistemas ambientais. Adicionalmente constata-se também, que a comunidade científica não consegue acompanhar, em termos de caracterização e características de perigosidade, a velocidade com que a indústria sintetiza e desenvolve os novos químicos, contrariamente ao que sucede com os poluentes mais tradicionais. Neste sentido, salienta-se que para os Poluentes Emergentes, a regulação legislativa é quase nula ou mesmo inexistente. Salienta-se ainda, que em geral, e por oposição às características dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, os Poluentes Emergentes exibem uma baixa toxicidade aguda. Não obstante, possuem toxicidade crónica com efeitos manifestados na reprodução, fisiologia e crescimento dos seres vivos. Ainda neste âmbito, dois dos efeitos mais significativos conhecidos e documentados a nível mundial, são na alteração do comportamento sexual dos peixes, a redução da sua fertilidade/desregulação endócrina e a criação de estirpes de microrganismos resistentes a fármacos. Nos países desenvolvidos, as principais fontes dos Poluentes Emergentes são os esgotos domésticos, águas residuais dos hospitais, explorações pecuárias, aquacultura e a indústria.

ANEXOS

ANEXO I

O ENQUADRAMENTO LEGISLATIVO

O Regulamento (UE) N.º 253/2011, da Comissão de 15 de Março, que altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho, relativo ao registo, avaliação, autorização e restrição dos produtos químicos (REACH), no que respeita ao anexo XIII, estabelece os critérios de identificação das substâncias persistentes, bioacumuláveis e tóxicas (substâncias PBT) e das substâncias muito persistentes e muito bioacumuláveis (substâncias mPmB), bem como as informações a ter em conta na avaliação das propriedades de persistência, bioacumulação e toxicidade de substâncias. De acordo com este Regulamento, a identificação de substâncias PBT e mPmB é feita com base na ponderação da suficiência da prova por peritos, comparando com os critérios estabelecidos no seu ponto 1 (Critérios de Identificação de Substâncias PBT e mPmB) e todas as informações referidas no respetivo ponto 3.2 (Informações a ter em conta nas avaliações), que sejam pertinentes e estejam disponíveis. Entende-se por ponderação da suficiência da prova que todas as informações disponíveis relacionadas com a identificação de substâncias PBT ou mPmB são consideradas em conjunto, compreendendo, por exemplo, os resultados de monitorização e modelação, os ensaios *in vitro* adequados, os dados pertinentes obtidos com animais, as informações obtidas através da aplicação da abordagem por categorias (agrupamento, comparação por interpolação), os resultados de (Q)SAR, efeitos observados em pessoas, como dados relativos a saúde ocupacional e provenientes de bases de dados sobre acidentes, os estudos epidemiológicos e clínicos e ainda as observações e os relatórios de casos bem documentados. A qualidade e a coerência dos dados devem ser devidamente valorizadas, uma vez, que na ponderação da suficiência da prova, consideram-se em conjunto todos os resultados disponíveis, independentemente das conclusões que de cada um se extraíam.

Em conformidade com o Regulamento n.º 253/2011, de 15 de Março, consideram-se substâncias PBT (persistentes, bioacumuláveis e tóxicas) qualquer substância que cumpra os critérios seguintes:

Persistência

1. Meia-vida de degradação na água do mar superior a 60 dias;
2. Meia-vida de degradação em água doce ou de estuários superior a 40 dias;
3. Meia-vida de degradação em sedimentos marinhos superior a 180 dias;
4. Meia-vida de degradação em sedimentos de água doce ou de estuários superior a 120 dias;
5. Meia-vida de degradação no solo superior a 120 dias.

Bioacumulação

1. Fator de bioconcentração em espécies aquáticas for superior a 2000.

Toxicidade

1. Concentração sem efeitos observados a longo prazo (NOEC – *long-term No-Observed Effect Concentration*) ou EC_{10} ³⁹ (Limite de Concentração de Crescimento Médio) em organismos marinhos ou de água doce inferior a 0,01 mg/l;
2. Satisfaz os critérios para ser classificada de cancerígena (categoria 1A ou 1B), mutagénica em células germinativas (categoria 1A ou 1B) ou tóxica para a reprodução (categoria 1A, 1B ou 2) de acordo com o Regulamento (CE) n.º 1272/2008 [47];
3. Existem outras provas de toxicidade crónica, dado que a substância satisfaz os critérios para ser classificada de tóxica para órgãos-alvo específicos após exposição repetida (STOT RE, categoria 1 ou 2) de acordo com o Regulamento (CE) n.º 1272/2008.

A AVALIAÇÃO DO RISCO

Uma das principais prerrogativas da saúde pública consiste no entendimento de que alguns vetores ambientais podem induzir ou provocar efeitos adversos na saúde dos seres humanos. Foi porém nos anos mais recentes, nomeadamente devido ao rápido desenvolvimento da indústria e, por conseguinte, pela massiva utilização de algumas matérias-primas perigosas, que se revelaram alguns perigos que não haviam sido ainda detetados.

Atualmente os seres humanos encontram-se expostos a uma variedade de fatores ambientais, por intermédio dos diferentes componentes do meio ambiente, designadamente, a água, o ar, o solos e também os alimentos. A exposição ocorre em diversos locais e sob diversas formas, tanto por intermédio da ingestão de alimentos contaminados, como por inalação de ar/partículas de pó contaminadas, ou ainda, através do contacto dérmico com substâncias perigosas. Assim, verifica-se que o grau de exposição depende da concentração específica ou da intensidade do fator, bem como do intervalo de tempo durante o qual ocorre a exposição. Mediante as características do fator de exposição, ou seja, da substância em análise, podem verificar-se duas situações:

- O contaminante tem um efeito desprezável;
- O contaminante tem um efeito severo.

Relativamente ao tempo de exposição, verifica-se que este fator pode ou não ter influência no resultado final da exposição, uma vez, que uma exposição prolongada a um determinado fator (por exemplo, uma dada substância) pode não produzir efeitos significativos, enquanto que uma exposição breve a outro fator pode originar efeitos adversos relevantes. Por outro lado, é vulgar considerar-se a exposição como sendo descrita por uma função aditiva, isto é, quando um indivíduo é exposto a diferentes fatores, ou a um mesmo fator, presente em diversos sistemas ambientais (por exemplo, a água, o ar ou o solo), a exposição total costuma ser descrita pela soma de todos os fatores, ou pela concentração de cada fator, nos diferentes sistemas.

³⁹ O Limite de Concentração de Crescimento Médio (EC_{10}) exprime a dose de uma substância tóxica capaz de provocar a redução de 10% na população dos organismos testados.

A avaliação da perigosidade associada à exposição humana a determinadas substâncias, tais como, os congéneres de PCDD/Fs ou PCBs com atividade de dioxina, realiza-se através de estudos toxicológicos. Normalmente estes estudos, envolvem a utilização de cobaias de animais, mas podem também, ser utilizados alguns dados disponíveis que existam sobre os efeitos destas substâncias nos seres humanos, pois infelizmente têm-se registado acidentes, nos quais ocorreu a exposição humana.

Assim, regra geral, podem ser avaliados dois tipos distintos de toxicidade, designadamente a toxicidade aguda e a crónica. A primeira, descreve os efeitos adversos de uma substância que resultam de uma única exposição a um fator, ou de várias exposições a esse fator, num curto espaço de tempo (geralmente, considera-se um período de menos de 24 horas). Salienta-se ainda, que para um determinado fator ser considerado como tendo toxicidade aguda, é necessário que os efeitos adversos da exposição se manifestem no prazo de 14 dias. A outra medida para aferir a toxicidade é a denominada toxicidade crónica. Esta consiste na avaliação dos efeitos adversos, provocados ao longo do tempo, por ação da exposição contínua a um determinado fator. Normalmente, para um fator ser considerado como tendo toxicidade crónica, é necessário que os efeitos adversos da exposição se manifestem no prazo de meses ou anos. Destas definições, salta a evidência que a toxicidade aguda avalia os efeitos da exposição de curto prazo enquanto que a toxicidade crónica avalia os efeitos da exposição de longo prazo.

Após as definições apresentadas, convém também considerar, outro conceito importante no âmbito da avaliação dos resultados da exposição humana a certas substâncias. Esse conceito é o risco, e normalmente define-se como a probabilidade de ocorrência de um efeito específico dentro de um período determinado ou em circunstâncias determinadas, ou seja de um modo mais simples, é uma medida da probabilidade do ocorrer um efeito adverso. Desde logo se constata, que essa probabilidade é tanto maior quanto maior for a perigosidade ou o tempo de exposição a uma dada substância. Verifica-se também, que em alguns casos, a presença de uma dada substância pode potenciar os efeitos adversos de outra, obtendo-se como resultado final, um acréscimo do risco associado à exposição, que pode ser superior ao da soma dos riscos individuais de cada uma das substâncias em separado. Deste modo, a avaliação do risco contempla em três passos fundamentais:

- 1- A avaliação dos efeitos;
- 2- A avaliação da exposição;
- 3- A caracterização do risco.

Ainda no âmbito da avaliação do risco, um dos fatores que deve ser considerado como fundamental para a obtenção de efeitos adversos é dosagem de exposição. Esta poderá ser descrita por alguns parâmetros, tais como, a dose efetiva (ED_{10} ⁴⁰) ou a dose letal mediana (LD_{50} ⁴¹) – dose de uma substância química necessária capaz de matar 50% da população da espécie de cobaia testada). Assim, uma forma simples mas eficaz para avaliar a toxicidade de uma dada substância, consiste no

⁴⁰ A Dose Efetiva (ED_{10}) define-se como a dose de uma substância química necessária para produzir um efeito adverso em 10% da população da espécie de cobaia testada.

⁴¹ A Dose Letal Mediana (LD_{50}) define-se como a dose de uma substância química necessária para matar 50% da população da espécie de cobaia testada

cálculo da relação dose/resposta. Segundo este método, é possível avaliar toxicidade do fator de exposição (ou substância), analisando a percentagem da população afetada, quando se lhe administra uma determinada quantidade dessa substância. É precisamente este assunto que será abordado nos pontos seguintes.

CONSEQUÊNCIAS PARA O AMBIENTE E SAÚDE HUMANA

Verifica-se portanto, que o conhecimento da quantidade destes poluentes orgânicos que é libertada para o meio ambiente é um aspeto importante, que não deve ser descurado. Atualmente já existem diversos inventários nacionais em muitos países sobre a libertação de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina. No âmbito nacional, e em conformidade com o Regulamento (CE) n.º 166/2006, do Parlamento Europeu e do Conselho, relativo à criação do Registo Europeu das Emissões e Transferências de Poluentes (PRTR) e que altera as Directivas 91/689/CEE e 96/61/CE do Conselho, Portugal é obrigado a elaborar o inventário nacional, e posteriormente, reportar os dados à UE. Deste modo, é possível elaborar o inventário europeu sobre a libertação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, nos diferentes sistemas ambientais (ar, solo e água). Ainda de acordo com o referido regulamento, o operador de cada estabelecimento que realize uma ou mais das atividades especificadas no anexo I, excedendo os limiares de capacidade aplicáveis especificados no mesmo anexo, deve comunicar anualmente à autoridade competente⁴² as quantidades, indicando ao mesmo tempo se os dados se baseiam em medições, cálculos ou estimativas, das emissões para o ar, a água e o solo de qualquer dos poluentes especificados no anexo II, e em relação aos quais tenha excedido o limiar aplicável.

Neste âmbito, as atividades sobre as quais o regulamento incide, ou seja as que constam do anexo I, são 65 abrangendo apenas 9 sectores de atividade. Assim, sempre qualquer operador exceda os limiares de capacidade aplicáveis e especificados para as atividades seguidamente discriminadas, ele é obrigado a comunicar as respetivas emissões para o ar, a água e o solo, relativamente aos poluentes especificados no anexo II, do Regulamento:

1. Energia;
2. Produção e transformação de metais;
3. Indústria de minerais;
4. Indústria química;
5. Gestão dos resíduos e das águas residuais;
6. Produção e transformação de papel e madeira;
7. Produção animal intensiva e aquicultura;
8. Produtos animais e vegetais do setor alimentar e das bebidas;
9. Outras atividades.

⁴² Em Portugal a entidade designada como Autoridade competente, no âmbito do Regulamento (CE) n.º 166/2006, é a Agência Portuguesa do Ambiente (APA).

No que respeita aos poluentes especificados no anexo II do Regulamento, estes constituem um grupo de 91 substâncias ou famílias de substâncias, entre as quais, se encontram os PCDD/Fs (poluente n.º 47) e os PCBs (poluente n.º 50).

Estes inventários, cujos valores são reportados numa base de I-TEQ (para os congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina) permitem recolher informação específica, acerca da contribuição de alguns sectores de atividade, para o aumento dos níveis destas substâncias no meio ambiente. Salienta-se também, que a indústria de produtos animais (produção animal intensiva, criação de aves de capoeira ou suínos, e aquicultura e produtos animais e vegetais do setor alimentar e das bebidas, matadouros), está também inserida no inventário. Este facto é importante, pois verifica-se, que a ingestão é a principal via de assimilação destes poluentes pelo ser humano, pelo que, é relevante estabelecer normas e critérios de controlo que permitam salvaguardar a exposição humana. Seguidamente serão abordadas as principais via de assimilação dos congéneres de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina pelos seres humanos.

A CONVENÇÃO DE ESTOCOLMO

Atendendo ao exposto até ao momento, verifica-se que as PCDD/Fs e os PCBs com atividade de dioxina são famílias de substâncias com relevância significativa, no que respeita ao seu impacto ambiental. Nesse contexto, e sob os auspícios do Programa das Nações Unidas para o Ambiente (PNUA), foram concluídas, em Dezembro de 2000, as negociações relativas à Convenção sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs – *Persistent Organic Pollutant*). Em Maio de 2001, foi adotada a Convenção de Estocolmo pela Conferência dos Ministros Plenipotenciários, tendo a Comunidade Europeia e os então quinze Estados Membros, bem como oito dos novos Estados Membros assinado a Convenção (dia 22 de Maio desse ano).

A Convenção de Estocolmo fornece um enquadramento, baseado no princípio da precaução⁴³, para a eliminação da produção, utilização, importação e exportação de 12 POPs definidos como prioritários, o seu manuseamento em segurança e a deposição permanente e eliminação ou redução das libertações não intencionais de certos POPs no ambiente. No texto da Convenção são também definidas as regras de inclusão de novos químicos aos seus anexos. Assim, são definidos como POPs as substâncias químicas orgânicas de base-carbono. Estas substâncias para serem classificadas com POP têm de satisfazer várias condições, nomeadamente:

1. Permanecem inalteradas por períodos de tempo excecionalmente longos (pelo menos, vários anos);
2. Através da ação de diferentes processos naturais de transporte apresentam-se distribuídos amplamente pelas várias componentes ambientais (solo, água e ar);

⁴³ De acordo com o n.º 1 do Artigo 7.º do Regulamento (CE) N.º 178/2002, do Parlamento e do Conselho, de 28 de Janeiro de 2002, o princípio da precaução deve ser utilizado nos casos específicos em que, na sequência de uma avaliação das informações disponíveis, se identifique uma possibilidade de efeitos nocivos para a saúde, mas persistam incertezas a nível científico. Podem ser adoptadas as medidas provisórias de gestão dos riscos necessárias para assegurar o elevado nível de protecção da saúde por que se optou na Comunidade, enquanto se aguardam outras informações científicas que permitam uma avaliação mais exaustiva dos riscos.

3. Devido à sua bioacumulação no tecido gordo dos organismos vivos são encontrados em elevadas concentrações nos níveis mais elevados da cadeia alimentar, sendo que também são tóxicos para os organismos vivos (incluindo o ser humano).

Como resultado de várias décadas de libertação (involuntária ou não) de substâncias com estas características no meio ambiente, devido sobretudo à atividade humana, atualmente, os POPs estão amplamente distribuídos pelo planeta, mesmo em áreas onde nunca houve a sua utilização. Esta contaminação atinge várias espécies e sistemas ambientais, incluindo os seres humanos. Ainda mais grave é o facto de que a contaminação já perdurar há pelo menos 3 décadas, tendo dado o salto geracional, e por consequente, transmitindo-se ao longo de diferentes gerações. Em última análise, um dos mais perniciosos e significativos efeitos que resultam deste problema, são os efeitos crónicos agudos que se manifestam sob várias formas, nomeadamente em problemas de desenvolvimento congénito dos recém-nascidos (ao nível neurológico e outros), ocorrências de cancro, alergias, hipersensibilidade, desordens do sistema nervoso, do sistema reprodutivo e do sistema imunitário. No campo dos outros organismos vivos, os efeitos podem também incluir a desregulação endócrina, uma vez, que alguns dos POPs são considerados como disruptores ou desreguladores endócrinos, sendo portanto, capazes de prejudicar o sistema reprodutivo e imunitário dos seres vivo expostos.

Para além do referido, os POPs concentram-se nos organismos vivos (essencialmente no tecido gordo) através do processo de bioacumulação. Peixes, aves, mamíferos e seres humanos, que estão na parte superior da cadeia alimentar, ao ingerirem outros animais absorvem estas substâncias. Este problema é significativo, uma vez, que atinge diversas zonas do planeta onde não era espetável os animais e seres humanos apresentarem elevados níveis de POPs no seu organismo, designadamente as regiões do pólo árticas. Neste âmbito, e por forma a avaliar a contaminação global destes poluentes, a Convenção de Estocolmo definiu inicialmente 3 categorias que englobam 12 POPs, nomeadamente:

1. Pesticidas (Aldrina, Clordano, DDT, Dieldrina, Heptacloro, Hexclorobenzeno, Mirex e Toxafeno);
2. Substâncias Químicas Industriais (Hexclorobenzeno e PCBs);
3. Subprodutos (Hexclorobenzeno, PCDDs, PCDFs e PCBs).

Atualmente, e durante o quarto encontro realizado de 4 a 8 de Maio de 2009, na Conferência dos Partes (COP), a adoção de emendas aos anexos A (relativo à eliminação), B (relativo à restrição) e C (relativo à produção não intencional) permitiram adicionar outras 9 categorias de substâncias, designadamente:

4. Pesticidas (Clordecona, α -Hexabromobifenilo, β -Hexaclorociclohexano, Lindano ou γ -Hexaclorociclohexano e Pentaclorobenzeno);
5. Substâncias Químicas Industriais (Hexabromobifenilo, Éteres difenílicos hexa e heptabromados, Pentaclorobenzeno, Ácido Perfluorooctano Sulfonato e seus sais, Fluoreto de Perfluorooctano Sulfonilo, Éteres difenílicos tetra e pentabromados);
6. Subprodutos (α -Hexaclorociclohexano, β -Hexaclorociclohexano e Pentaclorobenzeno).

Tal como é possível de verificar, as três famílias de substâncias alvo no âmbito desta Tese Doutoral, fazem parte das 2ª e 3ª categorias de substâncias propostas inicialmente pela Convenção de Estocolmo.

A UNIÃO EUROPEIA

A União Europeia não tem ficado alienada dos problemas levantados por estas substâncias, a Estratégia Europeia de Ambiente e Saúde proposta na Comunicação da Comissão ao Conselho, ao Parlamento Europeu e ao Comité Económico e Social Europeu [Bruxelas, 11.6.2003 COM (2003) 338 final] refere que “...Foram resolvidos muitos problemas relacionados com o ambiente e a saúde, mas muito resta por fazer, particularmente no que respeita às implicações para a saúde das exposições crónicas, como as identificadas pela Agência Europeia do Ambiente, pela OMS e por uma pluralidade de organizações nacionais. Elas indicam que a interação entre ambiente e saúde é muito mais estreita e complexa do que geralmente se crê. Tem-se prestado pouca atenção, em particular, à interação dos diferentes poluentes no organismo humano, bem como no ambiente. Até um baixo nível de exposição ao longo de décadas a uma complexa amálgama de poluentes no ar, água, alimentação, produtos de consumo e edifícios é suscetível de ter efeitos significativos no estado de saúde dos cidadãos europeus...”.

Salienta ainda, que dada a magnitude e a complexidade das questões de ambiente e saúde, é urgente adotar uma nova abordagem para que, em harmonia com os objetivos de desenvolvimento sustentável, seja possível proteger o grupo mais vulnerável da nossa sociedade, que é também o que constituirá a sociedade de amanhã, as crianças. Na estratégia é proposta a criação de um quadro de políticas destinado a assegurar a defesa da sociedade como um todo, mas também, uma abordagem completa e de longo prazo que deve assentar numa abordagem integrada que envolva uma cooperação mais estreita entre a saúde, o ambiente e os domínios de investigação (Estratégia Europeia de Ambiente e Saúde - SCALE).

Os objetivos da estratégia foram definidos, tendo em consideração, que existe um leque de afeções que se suspeita estarem ligadas a fatores ambientais, nomeadamente as doenças respiratórias, asma e alergias que estão associadas à poluição do ar no interior e no exterior dos edifícios. Assim, existem cada vez mais evidências que as perturbações do desenvolvimento neurológico podem estar indubitavelmente relacionadas com uma multiplicidade de agentes, nomeadamente, os metais pesados e os POPs, tais como, as dioxinas, PCBs, pesticidas e outros.

Para além disso, as exposições ambientais estão associadas a múltiplos efeitos sobre a saúde condicionando e contribuindo para o desenvolvimento de afeções nos seres humanos. Alguns dos compostos organoclorados, tais como, os pesticidas, as dioxinas, os furanos e os PCBs estarão, possivelmente, relacionados com efeitos imunológicos, efeitos de desregulação endócrina, distúrbios neurotóxicos e cancro. Embora haja sido possível estabelecer correlações entre efeitos sobre a saúde e alguns fatores ambientais individuais, não se dispõe de um panorama global claro e integrado dos impactos na saúde resultantes da exposição complexa própria da vida real. A estratégia proposta tem em mira lograr uma melhor compreensão das ameaças de carácter ambiental que impendem sobre a saúde humana para identificar a incidência de doenças causadas por fatores ambientais na UE e planear respostas no plano das políticas aos desafios emergentes.

Assim na Estratégia Ambiente e Saúde proposta em 2003 tem como principais os objetivos:

1. Reduzir a incidência de doenças causadas por fatores ambientais na UE;
2. Identificar e prevenir novas ameaças à saúde com origem em fatores ambientais (incluindo as substâncias químicas, tais como, as dioxinas e os PCB, os desreguladores endócrinos e pesticidas, a poluição do ar, a gestão e proteção da água, o ruído, os resíduos, os acidentes industriais graves e a radiações ionizantes);
3. Reforçar a capacidade da UE de desenvolvimento de políticas nesta área;
4. Suprir o défice de conhecimento acerca da relação entre ambiente e saúde, concentrando-se, numa primeira fase, em alguns efeitos nocivos sobre a saúde considerados prioritários.

Com base na estratégia proposta foi adotado o Plano de Ação Europeu Ambiente e Saúde para o período de 2004-2010 centrado em três áreas principais e 13 vertentes de atuação:

MELHORIA DA CADEIA DE INFORMAÇÃO

Através da integração das informações sobre o ambiente e a saúde para conhecer as ligações entre as fontes de poluição e os efeitos na saúde

Acção 1: Desenvolver indicadores de saúde ambiental;

Acção 2: Desenvolver a monitorização integrada do ambiente, incluindo os alimentos, de forma a possibilitar a determinação da exposição humana relevante;

Acção 3: Desenvolver uma abordagem coerente relativa à biomonitorização na Europa;

Acção 4: Reforçar a coordenação e as atividades conjuntas no domínio do ambiente e da saúde.

PREENCHIMENTO DAS LACUNAS A NÍVEL DOS CONHECIMENTOS

Através do reforço da investigação no domínio do ambiente e da saúde e da identificação das questões emergentes

Acção 5: Integrar e reforçar a investigação europeia no domínio do ambiente e da saúde;

Acção 6: Concentrar a investigação nas doenças, perturbações e exposições;

Acção 7: Desenvolver sistemas metodológicos para analisar as interações entre o ambiente e a saúde;

Acção 8: Assegurar a identificação e o tratamento dos riscos potenciais para o ambiente e a saúde.

RESPOSTA: REVISÃO DAS POLÍTICAS E MELHORIA DA COMUNICAÇÃO

Através da sensibilização, comunicação do risco, formação educação, de forma a disponibilizar aos cidadãos a informação necessária para fazerem melhores opções de saúde e a assegurar que os profissionais nos diferentes domínios são alertados para as interações entre o ambiente e a saúde

Ação 9: Realizar atividades no domínio da saúde pública e ligar os parâmetros da saúde ambiental em rede através do programa de saúde pública;

Ação 10: Promover a formação de profissionais e melhorar a capacidade organizativa no domínio do ambiente e da saúde através da revisão e adaptação da política de redução do risco;

Ação 11: Coordenar medidas de redução do risco em curso e concentração nas doenças prioritárias;

Ação 12: Melhorar a qualidade do ar em recintos fechados;

Ação 13: Seguir os desenvolvimentos relativos aos campos eletromagnéticos.

Finalmente, um último aspeto fundamental no que se refere à informação, consiste na monitorização da exposição através do ambiente, incluindo os alimentos, aos fatores mais ligados à ocorrência dessas doenças. Para desenvolver um quadro coerente para a monitorização integrada da exposição foram realizados três projetos-piloto sobre substâncias relativamente às quais já foram recolhidos dados e que já são monitorizadas (dioxinas e PBCs, metais pesados e desreguladores endócrinos).

A política de ambiente da União europeia é cada vez mais um assunto de extrema relevância para os cidadãos europeus, a sociedade de uma forma geral, é cada vez mais sensível aos aspetos ambientais encarando-os como essenciais para a melhoria da qualidade de vida. A pressão das Organizações Não Governamentais, em particular, as de cariz Ambiental (ONGAs) promoveu a política de ambiente da EU a um nível de importância sem precedentes, rivalizando em popularidade com a moeda única.

As instituições da UE não ficaram desatentas a esta evolução e reagiram aprovando uma miríade de nova legislação ambiental sob a forma de Directivas comunitárias. Embora hoje o ambiente assuma a devida importância na esfera de ação da UE, a verdade é que nem sempre tal sucedeu. A primeira política de cariz essencialmente ambiental “germinou” nos Estados Unidos da América (EUA) durante a década de 1960 e foi o *National Environmental Policy Act (NEPA 1969)*. Este diploma foi o resultado final de vários eventos nessa década, nomeadamente, a Conferência Intergovernamental sobre o Uso e a Conservação da Biosfera, realizada em 1968 em Paris (França) e promovida pela Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura (UNESCO). Nesta conferência, abordou-se pela primeira vez o conceito de sustentabilidade, no entanto ainda nessa década, a criação e crescimento de movimentos de cidadãos ou ONGs, tais como, a “Friends of The Earth” e o derrame de petróleo, ocorrido em 29 de Janeiro de 1969 em Santa Barbara (EUA), precipitaram as autoridades norte-americanas para a procura de legislação que promovesse a proteção do ambiente, e consequentemente, da saúde humana.

O NEPA (1969) foi um diploma legislativo importante, porque introduziu pela primeira vez uma declaração de política ambiental de âmbito nacional e com objetivos específicos, permitindo estabelecer um *enforcement* por parte de agências federais para a aplicação das políticas de ambiente e dos seus objetivos. Neste âmbito foi criado o *Council on Environmental Quality (CEQ)* como uma divisão do gabinete executivo do Presidente dos EUA.

Também foi durante a década de 1970, que a então designada Comunidade Económica Europeia (CEE), aprovou a primeira Directiva relacionada com o ambiente, a Directiva 70/220/CEE do Conselho, de 20 de Março de 1970, relativa à aproximação das legislações dos Estados-Membros

respeitantes às medidas a tomar contra a poluição do ar pelos gases provenientes dos motores de ignição comandada que equipam os veículos a motor.

Em 1970 foi celebrado o primeiro dia da Terra nos EUA, e em 1971 “nasceu” no Canadá, a ONGA *Greenpeace* fundada por emigrantes norte-americanos. Segue-se em 1972, o Clube de Roma, que foi fundado em 1968 por Aurelio Peccei e por Alexander King. Este clube, que reuniu pessoas ilustres debateu um vasto número de assuntos relacionados com a política, a economia, o ambiente e o desenvolvimento sustentável, tendo publicado o relatório “Limites do Crescimento” (em 1972). Este documento lançou o primeiro alerta sobre os limites dos recursos naturais, mostrando de forma inequívoca, que os recursos não comportam o ritmo de crescimento populacional. Assim, concluiu o relatório, que o Planeta não suportará a pressão gerada sobre os recursos naturais e energéticos devidos ao crescimento populacional e ao aumento da poluição, mesmo tendo em consideração aspetos como o desenvolvimento tecnológico.

Verifica-se que o percurso legislativo ambiental e a cadeia de eventos que propulsionaram esse crescimento são extensos. Por esse motivo, apresenta-se em seguida, uma cronologia dos eventos ambientais mais significativos desde o ano de 1972 até à atualidade.

ANO	EVENTO
1972	Conferência da Organização das Nações Unidas (ONU) sobre o Ambiente Humano, realizada em Estocolmo (Suécia). Desde da criação da ONU, os três pilares fundamentais por si preconizados eram a Paz, os Direitos Humanos e o Desenvolvimento Sócio Económico. Em 1972, na Conferência de Estocolmo, foi acrescentado um novo pilar, o Ambiente;
1973	1º Programa de Ação da Comunidade em matéria de Ambiente (CEE); 1º choque petrolífero e Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies da Fauna e da Flora Selvagem Ameaçadas de Extinção (CITES), realizada em Washington (EUA);
1974	Publicação na Revista <i>Nature</i> do artigo de Rowland e Molina acerca da degradação da Camada de Ozono provocada pelo uso de Clorofluorcarbonos (CFC);
1976	Desastre industrial na fábrica de químicos <i>Industrie Chimie Meda Società</i> em Seveso (Itália)
1977	Primeira Conferência das Nações Unidas sobre a Desertificação, realizada em Nairobi (Quênia);
1978	Acidente do petroleiro <i>Amoco Cadiz</i> na costa da Bretanha (França);
1979	Adoção da Convenção sobre Poluição Atmosférica Transfronteiriça de Longa Distância (CLRTAP), realizada em Genebra (Suíça) sob a égide da CEE e ONU; Acidente na central nuclear <i>Three Mile Island</i> na ilha do Rio Susquehanna, Pensilvânia (EUA);
1980	Publicação do documento “A Estratégia mundial para a conservação” em Nova Iorque (EUA), elaborado sob patrocínio e supervisão do PNUMA (Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente), da UICN (União Internacional para a Conservação da Natureza) e do WWF (Fundo Mundial para a Natureza) onde aparece pela primeira vez a definição de “desenvolvimento sustentável” (manutenção dos processos ecológicos essenciais e dos sistemas de suporte de

vida, a preservação da diversidade genética e a utilização sustentável das espécies e ecossistemas);

Divulgação do relatório "*The Global 2000 Report to the President*" promovido pelo Presidente dos EUA Jimmy Carter;

- 1982 Aprovação da "Carta Mundial da Natureza" na Organização das Nações Unidas (ONU), a primeira declaração intergovernamental a afirmar o respeito pela Natureza como princípio básico;

Assinatura da adoção da Convenção das Nações Unidas sobre o Direito do Mar, realizada em Montego Bay (Jamaica);

Directiva 82/501/CEE do Conselho, de 24 de Junho de 1982, relativa aos riscos de acidentes graves de certas atividades industriais (Directiva SEVESO I);

- 1984 Desastre industrial na fábrica de químicos *Union Carbide India Limited* em Bhopal (Índia);

- 1985 Descoberta do buraco da camada de ozono na Antártida por cientistas americanos e ingleses (*British Antarctic Survey Station*);

Assinatura da adoção da Convenção de Viena para a Proteção da Camada de Ozono, realizada em Viena (Áustria) sob a égide da ONU;

Criação da ONGA Quercus - Associação Nacional de Conservação da Natureza em Braga (Portugal);

- 1986 Acidente na central nuclear de Chernobyl, perto da cidade de Prypiat (Ucrânia);

Assinatura da adoção da Convenção de Notificação Rápida em Caso de um Acidente Nuclear ou Emergência Radiológica, realizada em Viena (Áustria) sob a égide da Agência Internacional de Energia Atómica (AIEA);

- 1987 Publicação do Relatório Brundtland; "O Nosso Futuro Comum" pela Comissão Mundial sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento da ONU onde aparece uma nova definição de "desenvolvimento sustentável" (desenvolvimento que procura satisfazer as necessidades das gerações atuais sem comprometer as gerações futuras de satisfazer as suas próprias necessidades);

Assinatura da adoção do "Protocolo de Montreal" relativo às Substâncias que Empobrecem a Camada de Ozono, realizada em Montreal (Canadá) sob a égide da ONU é reconhecido pelas partes a necessidade de limitar a produção e o consumo de todas as substâncias que possam contribuir para o empobrecimento da camada de ozono;

- 1988 Criação do *Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)* (em Português, o Painel Intergovernamental para as Alterações Climáticas) pela Organização Meteorológica Mundial (WMO) e pelo Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA);

Criação da *Global Climate Coalition (GCC)*, inversamente ao IPCC este grupo tem como objetivo estabelecer uma oposição forte e imediata à ação de reduzir as emissões de gases com efeito de estufa.

- 1989 Assinatura da adoção da Convenção sobre o Movimento Transfronteiriço de Resíduos Perigosos e sua Eliminação (Convenção de Basileia), realizada em Basileia (Suíça) sob a égide do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA);
- Acidente do petroleiro *Exxon Valdez* na costa de Prince William Sound (Alasca);
- 1991 Assinatura da adoção da Convenção Sobre a Avaliação do Impacte Ambiental num Contexto Transfronteiriço (Convenção Espoo), realizada em Espoo (Finlândia) sob a égide da ONU;
- 1992 Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, realizada no Rio de Janeiro (Brasil) sob a égide da ONU, ficou conhecida como "Cimeira da Terra", "Conferência do Rio" ou "ECO-92";
- Assinatura da adoção da Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre Alterações Climáticas (CQNUAC), realizada no Rio de Janeiro (Brasil) sob a égide da ONU (documento emanado da Conferência do Rio);
- Assinatura do "Tratado de Maastricht" ou Tratado da União Europeia (TUE) em Maastricht (Holanda), o ambiente torna-se política comunitária;
- Assinatura da adoção da Convenção OSPAR sobre a cooperação internacional na proteção do ambiente marinho do Atlântico Nordeste, realizada em Oslo (Noruega);
- 1994 Assinatura da Criação da Agência Europeia do Ambiente (AEA) e da "Rede Europeia de Informação e de Observação do Ambiente" (Eionet) em Copenhaga (Dinamarca);
- Conferência Europeia sobre Cidades Sustentáveis, realizada em Aalborg (Dinamarca) sob a égide da União Europeia (EU) culminou com a assinatura da "Carta de Aalborg" ou "Carta das Cidades Europeias para a Sustentabilidade";
- 1995 Conferência das Nações Unidas - COP 1 (Conference of the Parties), realizada em Berlim (Alemanha) sob a égide da ONU;
- 1996 Entrada em vigor da Directiva 96/82/CE do Conselho de 9 de Dezembro de 1996, relativa ao controlo dos perigos associados a acidentes graves que envolvem substâncias perigosas (Directiva SEVESO II);
- 1997 Assinatura da adoção do Protocolo de Quioto, realizada em Quioto (Japão) sob a égide da ONU;
- Assinatura do Tratado de Amesterdão, realizada em Amsterdão (Holanda), a política europeia de ambiente é reforçada;
- Realização da Sessão Especial da Assembleia-geral das Nações Unidas (Rio +5) para avaliar o estado do cumprimento dos compromissos assumidos na Cimeira da Terra, realizada em Nova Iorque (EUA) sob a égide da ONU;
- Realização do primeiro Fórum Mundial da Água, realizada em Marraquexe (Marrocos) sob a égide do Conselho Mundial da Água;
- 1998 Assinatura da adoção da Convenção relativa ao Procedimento de Prévia Informação e Consentimento para determinados Produtos Químicos e Pesticidas Perigosos no Comércio Internacional, realizada em Roterdão (Holanda) sob a égide do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA);

- 1999 Acidente do petroleiro *Erika* no Golfo na costa da Bretanha (França);
- 2000 Assinatura da adoção da Declaração do Milénio - "Objectivos de Desenvolvimento do Milénio", realizada em Nova Iorque (EUA) sob a égide da ONU;
- Assinatura da adoção da Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), realizada em Estocolmo (Suécia) sob a égide do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA);
- 2002 Acidente do petroleiro *Prestige* na costa da Galiza (Espanha);
- Assinatura da criação da Agência Europeia de Segurança Marítima (EMSA) em Lisboa (Portugal) sob a égide da UE;
- Realização da Cimeira Mundial sobre o Desenvolvimento Sustentável – Cimeira de Joanesburgo (Rio+10) realizada em Joanesburgo (África do Sul) sob a égide da ONU;
- Adoção pela UE do 6º Programa de Ação em Matéria de Ambiente para o período de 2002 a 2012;
- 2003 Entrada em vigor da Directiva 2003/87/CE do Parlamento europeu e do Conselho, de 13 de Outubro de 2003, relativa à criação de um regime de comércio de licenças de emissão de gases com efeito de estufa na Comunidade e que altera a Directiva 96/61/CE do Conselho;
- Entrada em vigor da Directiva 2003/105/CE do Parlamento europeu e do Conselho, de 16 de Dezembro de 2003, que altera a Directiva 96/82/CE do Conselho relativa ao controlo dos perigos associados a acidentes graves que envolvem substâncias perigosas (Directiva SEVESO III);
- 2004 Aprovação do Plano Nacional das Alterações Climáticas (PNAC) na Resolução do Conselho de Ministros n.º 119/2004, de 31 de Julho;
- 2005 Entrada em vigor do Protocolo de Quioto;
- Criação do Mercado de Carbono "European Union Trading Scheme" (EU-ETS);
- Aprovação do Plano Nacional de Atribuição de Licenças de Emissão para o período de 2005 a 2007 (PNALE I);
- 2006 Atribuição do Prémio Nobel da Paz ao Norte-Americano Al Gore e ao Painel Intergovernamental para as Alterações Climáticas da ONU (IPCC) pela Fundação Nobel, em Estocolmo (Suécia);
- 2007 União Europeia assume a luta contra alterações climáticas como prioridade: Aprovados objetivos «20-20-20» no Conselho Europeu da Primavera realizado em Bruxelas (Bélgica);
- 2008 Aprovação do Plano Nacional de Atribuição de Licenças de Emissão para o período de 2008 a 2012 (PNALE II);
- Apresentação do Plano Portugal Eficiência 2015: Plano Nacional de Ação para a Eficiência Energética;
- 2009 5º Fórum Mundial da Água: "Unindo as Divisões da Água" realizado em Istambul (Turquia) sob a égide do Conselho Mundial da Água;

- 2010 16ª Conferência das Partes (COP 16) realizada em Cancun (México) sob a égide da Convenção das Nações Unidas sobre Alterações Climáticas.
- 2011 Acidente na central nuclear de Fukujima I, perto das cidades de Okuma and Futaba (Japão);

Tendo em conta o exposto, e avaliando portanto a evolução das políticas ambientais ao longo dos anos, verifica-se que existiram quatro períodos fundamentais:

1. A génese do movimento ambiental;
2. A definição de desenvolvimento sustentável;
3. A implementação do desenvolvimento sustentável;
4. A revisão da agenda – a Globalização.

Atualmente a consciência ecológica da UE tem um carácter condutor, assumindo-se como um dos *mainstreams* das políticas europeias, norteador portanto a generalidade das políticas e ações, num claro reforço do modelo de desenvolvimento sustentável. Esta nova dimensão, que deriva quer do progressivo aprofundamento e integração europeias, quer da crescente globalização das políticas de ambiente, trás novos desafios, tais como, a necessidade de ações conjuntas, no que concerne à resolução dos problemas ambientais, e consequentemente, a aplicação das suas políticas. Historicamente desde há mais de 30 anos que a UE promove e desenvolve normas ambientais rigorosas, simultaneamente apoia e coordena os esforços dos Estados-Membros (EM), bem como verifica se os seus governos respeitam e cumprem os compromissos assumidos.

Normalmente, as regras ambientais aprovadas são mais rígidas e rigorosas que as dos próprios EM o que conduz a uma maior segurança ambiental. Neste sentido, o processo de adesão dos EM à UE constituiu um instrumento eficaz que foi capaz de exportar padrões mais elevados em termos de legislação ambiental. Uma ação concertada e uma ação política equilibrada, que combinem o recurso a medidas regulamentares, destinadas a resolver problemas ambientais específicos com a utilização de instrumentos económicos e outros, que permitam fazer frente aos impactos ambientais de atividades setoriais, é indispensável para uma transição e promoção do desenvolvimento sustentável. Nas palavras do Comissário Europeu (Durão Barroso), “Necessitamos de uma Europa forte, generosa, capaz de garantir progresso, de criar empregos e oportunidades para todos, um continente com os valores da coesão e da solidariedade e sinónimo de um modelo social de qualidade, colocando os indivíduos no centro das preocupações”.

Não obstante a descrição histórica dos acontecimentos de maior relevância ao nível do ambiente, adiante será efetuada uma breve súmula acerca do enquadramento legislativo da União Europeia, no que diz respeito aos compostos de interesse, designadamente, as policlorodibenzo-*p*-dioxinas, os policlorodibenzofuranos e os compostos bifenilos com atividade de dioxina.

A LEGISLAÇÃO EUROPEIA

Legislação da UE relativamente aos PCDD/Fs e PCB:

1. Directiva n.º 76/403/CEE do Conselho, de 6 de Abril de 1976, relativa à eliminação dos policlorobifenilos e policlorotrifenilos;
2. Directiva n.º 76/769/CEE do Conselho, de 27 de Julho de 1976, relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas dos Estados-Membros respeitantes à limitação da colocação no mercado e da utilização de algumas substâncias e preparações perigosas;
3. Directiva n.º 76/907/CEE da Comissão, de 14 de Julho de 1976, que adapta ao progresso técnico a Directiva n.º do Conselho, de 27 de Junho de 1967, relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas respeitantes à classificação, embalagem e rotulagem das substâncias perigosas;
4. Directiva n.º 82/828/CEE do Conselho, de 3 de Dezembro de 1982, que altera pela terceira vez (PCT) a Directiva n.º 76/769/CEE relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas dos Estados-Membros respeitantes à limitação da colocação no mercado e da utilização de certas substâncias e preparações perigosas;
5. Directiva n.º 85/467/CEE do Conselho, de 1 de Outubro de 1985, que altera pela sexta vez (policlorobifenilos/policloroterfenilos) a Directiva n.º 76/769/CEE relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas dos Estados-Membros respeitantes à limitação da colocação no mercado e da utilização de certas substâncias e preparações perigosas;
6. Directiva n.º 86/278/CE, de 12 de Junho de 1986, relativa à proteção do ambiente, e em especial dos solos, na utilização agrícola de lamas de depuração;
7. Directiva n.º 87/101/CEE do Conselho de 22 de Dezembro de 1986 que altera a Directiva n.º 75/439/CEE relativa à eliminação dos óleos usados;
8. Directiva n.º 89/369/CEE do Conselho, de 8 de Junho de 1989, relativa à prevenção da poluição atmosférica proveniente de novas instalações de incineração de resíduos urbanos;
9. Directiva n.º 89/429/CEE do Conselho, de 21 de Junho de 1989, relativa à redução da poluição atmosférica proveniente das instalações existentes de incineração de resíduos urbanos;
10. Directiva n.º 89/677/CEE do Conselho, de 21 de Dezembro de 1989, que altera pela oitava vez a Directiva n.º 76/769/CEE relativa a aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas dos Estados-Membros respeitantes a limitação da colocação no mercado e da utilização de algumas substâncias e preparações perigosas;
11. Directiva n.º 90/476/CEE do Conselho, de 17 de Setembro de 1990, relativa às medidas provisórias aplicáveis após a unificação da Alemanha antes da adoção das medidas transitórias a tomar pelo Conselho em cooperação com o Parlamento Europeu;
12. Directiva n.º 90/657/CEE do Conselho, de 4 de Dezembro de 1990, relativa às medidas transitórias aplicáveis na Alemanha no âmbito da harmonização das regras técnicas;

13. Directiva n.º 91/156/CEE do Conselho de 18 de Março de 1991 que altera a Directiva n.º 75/442/CEE relativa aos resíduos;
14. Directiva n.º 91/339/CEE do Conselho de 18 de Junho de 1991 que altera pela décima primeira vez a Directiva n.º 76/769/CEE relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas dos Estados-Membros respeitantes à limitação da colocação no mercado e da utilização de determinadas substâncias e preparações perigosas;
15. Directiva n.º 91/689/CEE do Conselho, de 12 de Dezembro de 1991, relativa aos resíduos perigosos;
16. Directiva n.º 94/37/CE da Comissão de 22 de Julho de 1994 que altera a Directiva 91/414/CEE do Conselho relativa à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado;
17. Directiva n.º 94/55/CE do Conselho, de 21 de Novembro de 1994, relativa à aproximação das legislações dos Estados-membros respeitantes ao transporte rodoviário de mercadorias perigosas;
18. Directiva n.º 94/67/CE do Conselho, de 16 de Dezembro de 1994, relativa à incineração de resíduos perigosos;
19. Directiva n.º 96/23/CE do Conselho, de 29 de Abril de 1996, relativa às medidas de controlo a aplicar a certas substâncias e aos seus resíduos nos animais vivos e respetivos produtos e que revoga as Directiva n.ºs 85/358/CEE e 86/469/CEE e as Decisões 89/187/CEE e 91/664/CEE;
20. Directiva n.º 96/49/CE do Conselho de 23 de Julho de 1996 relativa à aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes ao transporte ferroviário de mercadorias perigosas;
21. Directiva n.º 96/59/CE do Conselho, de 16 de Setembro de 1996, relativa à eliminação dos policlorobifenilos e dos policlorotrifenilos (PCB/PCT);
22. Directiva n.º 95/50/CEE, do Conselho, de 6 de Outubro, relativa a procedimentos uniformes de controlo do transporte rodoviário de mercadorias perigosas;
23. Directiva n.º 96/86/CE da Comissão de 13 de Dezembro de 1996 que adapta ao progresso técnico a Directiva n.º 94/55/CE do Conselho, relativa à aproximação das legislações dos Estados-membros respeitantes ao transporte rodoviário de mercadorias perigosas;
24. Directiva n.º 98/60/CE da Comissão de 24 de Julho de 1998 que altera a Directiva n.º 74/63/CEE do Conselho relativa à fixação de teores máximos em substâncias e produtos indesejáveis nos alimentos para animais;
25. Directiva n.º 2000/53/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 18 de Setembro de 2000, relativa aos veículos em fim de vida;
26. Directiva n.º 2000/62/CE, de 10 de Outubro de 2000, que altera a Directiva n.º 96/49/CE do Conselho relativa à aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes ao transporte ferroviário de mercadorias perigosas, Directiva n.º 2001/6/CE, de 29 de Janeiro de 2001 que adapta, pela terceira vez, ao progresso técnico a Directiva n.º 96/49/CE do Conselho relativa à aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes ao transporte ferroviário de mercadorias perigosas e Directiva n.º 2003/29/CE, de 7 de Abril de 2003, que adapta ao progresso técnico, pela quarta vez, a Directiva n.º 96/49/CE do Conselho relativa à

- aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes ao transporte ferroviário de mercadorias perigosas;
27. Directiva n.º 2000/76/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 4 de Dezembro de 2000, relativa à incineração de resíduos;
 28. Directiva n.º 2001/7/CE, de 29 de Janeiro de 2001, que adapta, pela terceira vez, ao progresso técnico a Directiva n.º 94/55/CE do Conselho, relativa à aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes ao transporte rodoviário de mercadorias perigosas, Directiva n.º 2003/28/CE, de 8 de Maio de 2003, relativa à promoção da utilização de biocombustíveis ou de outros combustíveis renováveis nos transportes e a Directiva n.º 2001/26/CE, de 7 de Maio, que altera a Directiva n.º 2004/111/CE, de 9 de Dezembro de 2004, que adapta, pela quinta vez, ao progresso técnico a Directiva n.º 94/55/CE do Conselho relativa à aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes ao transporte rodoviário de mercadorias perigosas e Directiva n.º 2004/112/CE, de 11 de Fevereiro de 2004, que altera a Directiva 94/62/CE relativa a embalagens e resíduos de embalagens;
 29. Directiva n.º 2001/46/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Julho de 2001, que altera a Directiva n.º 95/53/CE do Conselho que fixa os princípios relativos à organização dos controlos oficiais no domínio da alimentação animal e as Directivas n.ºs 70/524/CEE, 96/25/CE e 1999/29/CE do Conselho relativas aos alimentos para animais;
 30. Directiva n.º 2001/59/CE da Comissão, de 6 de Agosto de 2001, que adapta ao progresso técnico pela vigésima oitava vez a Directiva n.º 67/548/CEE do Conselho, relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas respeitantes à classificação, embalagem e rotulagem das substâncias perigosas;
 31. Directiva n.º 2001/102/CE do Conselho, de 27 de Novembro de 2001, que altera a Directiva n.º 1999/29/CE do Conselho relativa às substâncias e produtos indesejáveis nos alimentos para animais;
 32. Directiva n.º 2002/2/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 28 de Janeiro de 2002, que altera a Directiva n.º 79/373/CEE do Conselho relativa à circulação de alimentos compostos para animais e revoga a Directiva n.º 91/357/CEE da Comissão;
 33. Directiva n.º 2002/69/CE da Comissão, de 26 de Julho de 2002, que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial das dioxinas e a determinação de PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios;
 34. Directiva n.º 2002/70/CE da Comissão, de 26 de Julho de 2002, que estabelece os requisitos para a determinação dos níveis de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina nos alimentos para animais;
 35. Directiva n.º 2002/96/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 27 de Janeiro de 2003, relativa aos resíduos de equipamentos eléctricos e electrónicos (REEE);
 36. Directiva n.º 2003/57/CE da Comissão, de 17 de Junho de 2003, que altera a Directiva n.º 2002/32/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 7 de Maio de 2002, relativa às substâncias indesejáveis nos alimentos para animais;

37. Directiva n.º 2004/44/CE da Comissão, de 13 de Abril de 2004, que altera a Directiva n.º 2002/69/CE que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial das dioxinas e a determinação de PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios;
38. Directiva n.º 2005/6/CE da Comissão, de 26 de Janeiro de 2005, que altera a Directiva n.º 71/250/CEE no que diz respeito à apresentação e interpretação de resultados analíticos exigidos nos termos da Directiva n.º 2002/32/CE;
39. Directiva n.º 2005/7/CE da Comissão, de 27 de Janeiro de 2005, que altera a Directiva n.º 2002/70/CE que estabelece os requisitos para a determinação dos níveis de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina nos alimentos para animais;
40. Directiva n.º 2006/12/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 5 de Abril de 2006, relativa aos resíduos;
41. Directiva n.º 2006/13/CE da Comissão, de 3 de Fevereiro de 2006, que altera os anexos I e II da Directiva n.º 2002/32/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, relativa às substâncias indesejáveis nos alimentos para animais, no que diz respeito às dioxinas e aos PCB sob a forma de dioxina;
42. Directiva n.º 2006/129/CE da Comissão, de 8 de Dezembro de 2006, que altera e retifica a Directiva n.º 96/77/CE que estabelece os critérios de pureza específicos dos aditivos alimentares com exceção dos corantes e dos edulcorantes;
43. Directiva n.º 2008/68/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 24 de Setembro de 2008, relativa ao transporte terrestre de mercadorias perigosas;
44. Directiva n.º 2008/84/CE da Comissão, de 27 de Agosto de 2008, que estabelece os critérios de pureza específicos dos aditivos alimentares com exceção dos corantes e dos edulcorantes;
45. Directiva n.º 2008/98/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 19 de Novembro de 2008, relativa aos resíduos e que revoga certas directivas;
46. Directiva n.º 2008/99/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 19 de Novembro de 2008, relativa à proteção do ambiente através do direito penal;
47. Directiva n.º 2008/105/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de Dezembro de 2008, relativa a normas de qualidade ambiental no domínio da política da água, que altera e subsequentemente revoga as Directiva n.ºs 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE e 86/280/CEE do Conselho, e que altera a Directiva n.º 2000/60/CE;
48. Directiva n.º 2010/75/UE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 24 de Novembro de 2010, relativa às emissões industriais (Prevenção e Controlo Integrados da Poluição).

Verifica-se portanto que o enquadramento legislativo é extenso e abrangente o que demonstra a preocupação das autoridades europeias relativamente a estes poluentes.

ANEXO II

PUBLICAÇÕES

1. Antunes P., Viana P., Vinhas T., Gaspar E., Capelo-Martinez J L. (2006). Simultaneous determination of chlorinated organic compounds – Dioxins, Furans, Dioxin-Like PCBs and Hexachlorobenzene in atmospheric air and stationary source emissions. Póster apresentado no 26th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, realizado em August 21 – 25 do ano de 2006, em Oslo (Noruega);
2. Antunes P., Viana P., Vinhas T., Capelo JL., Rivera J., Gaspar EM. (2008). Optimization of pressurized liquid extraction (PLE) of dioxin-furans and dioxin-like PCBs from environmental samples. *Talanta*, 75, 916–925;
3. Antunes P., Viana P., Vinhas T., Rivera J., Gaspar EM. (2012). Emission profiles of polychlorinated dibenzodioxins, polychlorinated dibenzofurans (PCDD/Fs), dioxin-like PCBs and hexachlorobenzene (HCB) from secondary metallurgy industries in Portugal. *Chemosphere*, 88, 1332-1339
4. Artigo em preparação sobre os resultados obtidos nas campanhas de monitorização, sobre níveis de PCDD/Fs e PCBs com atividade de dioxina, em amostras de mexilhão.